



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

PABLO AUGUSTO POLETO ANTIQUEIRA

EFEITOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NA ESTRUTURA  
DE COMUNIDADES E FUNCIONAMENTO ECOSSISTÊMICO  
UTILIZANDO BROMÉLIAS-TANQUE COMO SISTEMA  
MODELO

EFFECTS OF CLIMATE CHANGE ON COMMUNITY  
STRUCTURE AND ECOSYSTEM FUNCTIONING USING  
TANK-BROMELIADS AS A MODEL SYSTEM

CAMPINAS

2017

**PABLO AUGUSTO POLETO ANTIQUEIRA**

**EFEITOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NA ESTRUTURA DE  
COMUNIDADES E FUNCIONAMENTO ECOSSISTÊMICO  
UTILIZANDO BROMÉLIAS-TANQUE COMO SISTEMA MODELO**

**EFFECTS OF CLIMATE CHANGE ON COMMUNITY STRUCTURE  
AND ECOSYSTEM FUNCTIONING USING TANK-BROMELIADS AS A  
MODEL SYSTEM**

*Tese apresentada ao Instituto de Biologia  
da Universidade Estadual de Campinas  
como parte dos requisitos exigidos para a  
obtenção do Título de Doutor em Ecologia*

*Thesis presented to the Institute of Biology  
of the University of Campinas in partial  
fulfillment of the requirements for the  
degree of Doctor in Ecology*

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À  
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO  
ALUNO PABLO AUGUSTO POLETO  
ANTIQUEIRA E ORIENTADA PELO GUSTAVO  
QUEVEDO ROMERO.

*Orientador: GUSTAVO QUEVEDO ROMERO*

**CAMPINAS**

**2017**

**Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s):** FAPESP, 2014/04603-4; CAPES

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Biologia  
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

An87e Antikeira, Pablo Augusto Poletto, 1987-  
Efeito das mudanças climáticas na estrutura de comunidades e  
Funcionamento ecossistêmico utilizando bromélias-tanque como sistema  
Modelo / Pablo Augusto Poletto Antikeira. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Gustavo Quevedo Romero.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de  
Biologia.

1. Mudanças climáticas. 2. Animais predadores. 3. Ecossistema. 4.  
Biodiversidade. 5. Bromeliaceae. I. Romero, Gustavo Quevedo, 1974-. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Effects of climate change on community structure and ecosystem functioning using tank-bromeliaes as a model system.

**Palavras-chave em inglês:**

Climate changes  
Predatory animals  
Ecosystems  
Biodiversity  
Bromeliaceae

**Área de concentração:** Ecologia

**Titulação:** Doutor em Ecologia

**Banca examinadora:**

Gustavo Quevedo Romero [Orientador]  
Simone Aparecida Vieira  
Sérgio Furtado dos Reis  
Mathias Mistretta Pires  
Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmiento

**Data de defesa:** 12-01-2017

**Programa de Pós-Graduação:** Ecologia

Campinas, 12 de janeiro de 2017.

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

Prof. Dr. Gustavo Quevedo Romero (Orientador)

Profa. Dra. Simone Aparecida Vieira

Prof. Dr. Sérgio Furtado dos Reis

Prof. Dr. Mathias Mistretta Pires

Prof. Dr. Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmento

*Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.*

*Aos meus pais, Augusto e Fátima*

*“Quando alguém julga ter alcançado o saber, é porque ainda não sabe onde está o verdadeiro conhecimento.”*

(1 Cor. 8,2 - Bíblia sagrada, edição pastoral, 1991)

## **Agradecimentos**

O conteúdo dessa tese é fruto de um árduo trabalho coletivo, sem o qual meu doutorado não teria saído nem da sala de matrícula. Muitas são as pessoas que me ajudaram de várias formas nessa jornada. A ausência de nomes aqui não significa desconsideração, apenas uma limitação de páginas. Sou imensamente grato a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a construção da tese e do meu doutorado.

Agradeço a Deus por primeiro. Inumeras vezes minha fé mostrou que Ele estava comigo, ajudando a levantar nas muitas quedas que sofri no caminho.

Aos meus pais, Augusto (Gustão) e Fátima. Pela criação exemplar. Por me mostrarem que a família unida é fonte de felicidade, paz, amor e sucesso. Um verdadeiro dom de Deus. Por me incentivarem a seguir sempre em frente, no estudo e na vida. Por me mostrarem que devemos tratar bem a todos. Que humildade e respeito são virtudes necessárias. Amo vocês e dedico todas as minhas conquistas a vocês, ao mesmo tempo em que peço desculpas pelos tropeços.

A minha irmã Patrícia pelo amor, confiança e por sempre estar ao meu lado. À minha família por me mostrarem a alegria da vida, da boa convivência, do quão importante os laços fraternos são, sempre nos fortalecendo e alegrando. Agradeço à minha namorada Bruna pelo amor, paciência e companheirismo, amo você!

Agradeço em especial meu orientador Prof. Dr. Gustavo Romero. Sou imensamente grato por todo aprendizado que adquiri durante esses oito anos de orientação e amizade. Com certeza grande parte do meu crescimento profissional se deve à sua competente orientação e dedicação à ciência.

Agradeço aos grandes amigos do LIMBio por todos os momentos agradáveis no laboratório e em campo!

Agradeço aos amigos que ajudaram diretamente nos experimentos em campo. Obrigado a Jennifer (Japa), Babi, Paula, Alexandre (Supertramp), Talharini, Tiago Bernabé, Cauê e Sandra. Um agradecimento especial ao amigo Adriano Mendonça pela grande ajuda em campo (desde a iniciação científica!). Com certeza sem vocês esse experimento não teria acontecido.

Aos funcionários dos PESM, Núcleo Picinguaba, Ubatuba-SP, por todo o suporte durante o período de atividades em campo.

Ao Felipe Rezende e ao Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho do NUPELIA/UEM, Maringá, pela ajuda e suporte com as identificações da microfauna. A Profª Dra Valéria Maia de

Oliveira e a Viviane do CPQBA/UNICAMP, Paulínia, pela ajuda na identificação e contagem de bactérias.

Ao grupo de pesquisa do Prof. Dr. Owen Petchey pela grande ajuda e paciência durante o período de doutorado sanduiche na Universidade de Zurique, Suíça. Agradeço em especial à Alejandra, Aurelie, Vanessa, Gian Marco, Frank, Maja e Debra. Agradecimento especial ao Prof. Dr. Owen, a quem o respeito e a consideração aumentaram ainda mais após conhecê-lo pessoalmente. Com certeza um exemplo de pessoa e profissional.

Aos meus amigos que mesmo sem estar em campo ou laboratório me ajudaram com a amizade, paciência e estímulo. A todos os meus amigos de Alto Alegre, os quais os nomes, por minha felicidade, não cabem nesta página, mas em especial ao Irmão, Gilson e Diet. Aos grandes amigos Angelo, Batatais, Yuri, Maurício, Pe Laércio, Leonardo. Agradeço à Camila Vieira pela grande amizade, um exemplo de amiga e profissional e que me ajudou em todas as etapas da minha vida profissional. Muito obrigado a todos vocês pela amizade sincera e valiosa.

Aos amigos Paula Omena, Thiago Gonçalves-Souza e Mônica pelos comentários, sugestões e correções da primeira versão da tese.

A todos vocês meu sincero muito obrigado!

Este estudo de doutorado foi financiado pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo/ FAPESP – Bolsa doutorado regular (2014/04603-4) e Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior / BEPE (2015/06646-5) - e também pela CAPES.



## **Resumo geral**

Ecossistemas são estruturados por componentes abióticos, como temperatura e pluviosidade, e bióticos como produtores primários e predadores. Mudanças globais têm alterado fortemente estes fatores, afetando ecossistemas de maneira direta ou indireta, através dos impactos na biodiversidade. Estas alterações têm sido bem documentadas atualmente e atribuída, em grande parte, a uma ampla variedade de efeitos antrópicos como mudanças climáticas e degradação de habitat. A extinção de espécies devido às mudanças globais não ocorre de maneira aleatória e alguns grupos são mais suscetíveis, como por exemplo, predadores de topo. Nós utilizamos bromélias-tanque como sistema modelo para investigar, empiricamente, os efeitos isolados e interativos do aquecimento, das mudanças na diversidade de predadores de topo e do tamanho do habitat no funcionamento ecossistêmico e nos padrões de diversidade de diferentes grupos biológicos. No primeiro capítulo, investigamos como alterações ambientais (aquecimento e redução no tamanho do habitat) e tróficas (diversidade de predadores) afetam diferentes componentes da multifuncionalidade ecossistêmica, mediado pela diversidade e biomassa da comunidade aquática. No segundo capítulo, investigamos como essas mudanças ambientais e tróficas afetam os padrões de diversidade de diferentes grupos biológicos distantes filogeneticamente e de diferentes níveis tróficos - macrofauna, microfauna e bactérias. Nossos resultados demonstram que o aquecimento, a diversidade de predadores e o tamanho do habitat afetam de maneira particular a multifuncionalidade ecossistêmica e a diversidade dos diferentes grupos biológicos e níveis tróficos, diferindo em direção e magnitude. Esse estudo trouxe descobertas inéditas de como mudanças globais agem de maneira isolada e interativa na biodiversidade e funcionamento ecossistêmico.

## **Abstract**

Ecosystems are structured by abiotic components, such as temperature and rainfall, and biotics including primary producers and predators. Global changes have strongly modified these factors, affecting ecosystems directly or indirectly, through impacts on biodiversity. These changes have been well documented and attributed to several anthropogenic drivers such as climate change and habitat degradation. Species loss due to global changes does not occur randomly, and some groups are more sensitive than others, such as top predators. We used tank bromeliads as a model system to investigate, empirically, the individual and interactive effects of warming, changes in top predator diversity, and habitat size in ecosystem functioning and diversity patterns of different biological groups. In the first chapter, we evaluated how these anthropogenic-caused environmental changes (warming and habitat size reduction) combine with changes in predator diversity affect different components of ecosystem multifunctionality, mediated by the diversity and biomass of the aquatic community. In the second chapter, we explored how these environmental and trophic changes affect the diversity patterns of phylogenetically distant organisms and from different trophic levels - macrofauna, microfauna, and bacteria. Our results demonstrate that warming, predator diversity, and habitat size individually affect the ecosystem multifunctionality and diversity of different biological groups and trophic levels, differing in direction and magnitude. This study brought unprecedented discoveries of how individual and interactive components of global change drive biodiversity and ecosystem functioning.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
<b>ARTIGO 1:</b> Climate change, predator diversity and habitat size drive ecosystem multifunctionality .....	26
Abstract.....	27
Figures and tables.....	39
Methods.....	44
Supplemental material.....	55
<b>ARTIGO 2:</b> Mudanças ambientais e na diversidade de predadores determinam a alfa e beta diversidade em macro e micro-organismos.....	67
Resumo.....	68
Introdução.....	68
Material e métodos.....	73
Resultados.....	79
Discussão.....	81
Tabelas e Figuras.....	99
Material suplementar.....	104
<b>SÍNTESE</b> .....	108
<b>ANEXOS</b> .....	110

## **Introdução geral**

### **1. Mudanças globais e seus efeitos na biodiversidade e funcionamento ecossistêmico**

Ecossistemas são sistemas termodinamicamente abertos, com fluxo contínuo de energia e matéria entre os compartimentos bióticos e abióticos de um sistema (Chapin et al. 2011). A luz solar e seu aproveitamento pelos produtores primários, além da matéria orgânica alóctone, processada por consumidores, são exemplos importantes de fontes potenciais de energia em um ecossistema. Nesse sentido, as atividades dos organismos que possibilitam o fluxo energético e ciclagem da matéria são determinantes para o equilíbrio de um ecossistema (Chapin et al. 2000). O papel da biodiversidade no funcionamento de ecossistemas (B-FE) é fundamental e tem sido amplamente discutido nas duas últimas décadas (Tilman et al. 1996, 1997, Hooper et al. 2005, Naeem et al. 2009, Loreau 2010). Atualmente, há um consenso na comunidade científica sobre a relação positiva entre B-FE, e que a perda de espécies reduz a eficiência da biodiversidade nos processos ecossistêmicos (Hooper et al. 2012, Cardinale et al. 2012). Essa relação pode ser ainda mais intensa para a multifuncionalidade ecossistêmica, i.e., quando múltiplos processos ecossistêmicos são considerados de maneira conjunta (Hector & Bagchi 2007, Byrnes et al. 2014). Por outro lado, a maioria dos estudos sobre B-FE tem focado no papel da biodiversidade dentro de um mesmo nível trófico (i.e., diversidade horizontal), principalmente da diversidade de plantas (Tilman et al. 1997, Hooper et al. 2005, 2012). Porém, a diversidade de consumidores pode causar efeitos ainda mais intensos no ecossistema que a diversidade de recursos (Srivastava et al. 2009). Pequenas alterações na diversidade de predadores, por exemplo, podem causar impactos ainda mais severos no ecossistema do que mudanças na diversidade de plantas (Duffy 2003). Além disso, a perda da biodiversidade não ocorre de maneira aleatória, e alguns grupos são mais sensíveis à extinção do que outros (Petchey et al. 1999). Predadores são mais suscetíveis às variações ambientais do que outros grupos de organismos, devido, principalmente, ao tamanho populacional menor, maior tempo de geração, maior área de vida e tamanho corporal (Bruno & Cardinale 2008, Terborgh & Estes 2010, Estes et al. 2011, Brose et al. 2012). A maior taxa de extinção de predadores em relação a outros grupos pode alterar também a diversidade de níveis tróficos (diversidade vertical), com profundas consequências para o funcionamento do ecossistema (FE) (Duffy et al. 2007).

As alterações em diferentes aspectos da biodiversidade em respostas às mudanças ambientais têm sido atribuídas a uma ampla variedade de fatores. Os principais determinantes dessa reação são: aumento da concentração de gases estufa (IPCC-Climate Change and

Biodiversity 2002, Marengo 2007, Sala et al. 2000), uso irracional do solo (Metzger et al. 2010, Michalski et al. 2010), perda de habitats (Sala et al. 2000, Haddad et al. 2015), deposição de nitrogênio (Sala et al. 2000, Stevens et al. 2004, Compton et al. 2011), chuva ácida (Sala et al. 2000, Hames et al. 2002), alterações na composição da biota (e.g. alterações na estrutura da comunidade devido a espécies invasoras) (Sala et al. 2000) e mudanças climáticas (IPCC-Climate Change and Biodiversity 2002, Walther et al. 2002). A preocupação com o cenário climático global e suas potenciais consequências para as próximas décadas tem recebido especial atenção nos últimos anos (Parmesan 2006). O quinto relatório de avaliação do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC 2014) estima um aumento médio da temperatura global entre 1,7 °C, utilizando o cenário de baixa emissão de gases de efeito estufa e 4,8°C, para o cenário de alta emissão destes gases até 2100. Especificamente para o Brasil são previstos: possível deficiência no regime pluviométrico no leste amazônico e nordeste brasileiro, aumento na frequência de noites quentes e decréscimo na ocorrência de noites mais frias em todo o país, maior frequência de eventos extremos de precipitação no sudeste brasileiro e oeste amazônico, além de um aumento da temperatura média nacional (Marengo et al. 2007, 2009, 2010). Dependendo do cenário adotado e dos modelos climáticos utilizados, as projeções médias do aumento da temperatura para o período 2071-2100 no Brasil serão de 2°C a 7°C (IPCC 2014). Para região sudeste do Brasil é previsto um aumento de temperatura em torno de 2°C para o cenário mais otimista e em torno de 4°C para cenários de alta emissão de carbono (cenário mais pessimista) (PBMC 2013).

A influência das mudanças climáticas na biota, tanto aquática quanto terrestre, pode ser visualizada através das diferentes respostas ecológicas e comportamentais destes organismos, destacando-se: i) mudanças fenológicas tanto em plantas (e.g. avanço do período de floração) (Cleland et al. 2007) quanto em animais (e.g. avanço do período de nidificação) (Crick et al. 1997), ii) alteração das fronteiras biogeográficas da fauna e flora, iii) mudanças nos padrões migratórios (Parmesan et al. 1999), iv) favorecimento de espécies invasoras, v) possível decréscimo (O'Reilly et al. 2003) ou mesmo aumento (Petchey et al. 1999) na produtividade primária ou ecossistêmica. Entretanto, a grande maioria dos estudos restringiu-se ao nível de espécie, sendo que apenas recentemente foram incorporadas abordagens de comunidades, relações tróficas e processos ecossistêmicos (Walther 2010). Cascata trófica é o processo pelo qual o efeito dos predadores se propaga ao longo da teia alimentar, alterando abundância, biomassa ou produtividade em mais de um nível trófico (Paine 1980, Pace et al. 1999, Ripple et al. 2016). As interações intra e interespecíficas provocam efeitos em cascata

ao longo de toda a rede trófica atingindo, direta ou indiretamente, produtores e demais consumidores, influenciando processos ecossistêmicos importantes, tais como produtividade primária e processamento de matéria orgânica (Walther 2010). Alguns estudos reportaram alterações substanciais na dinâmica dessas interações em resposta ao aumento de temperatura e mudanças na precipitação (Suttle et al. 2007, Greig et al. 2012, Marino et al. 2016). Por exemplo, Barton & Schmitz (2009) demonstraram experimentalmente em campos abandonados dos EUA que o aquecimento alterou a estrutura trófica local, fazendo com que um sistema com efeito linear dos predadores (i.e. duas espécies de aranhas com diferentes estratégias de caça e forrageamento) fosse transformado em um sistema não linear, enfraquecido por predação intraguilda. Já em um experimento utilizando microcosmos aquáticos artificiais, Petchey et al. (1999) observaram o desaparecimento de herbívoros e predadores, provocado pelo aumento de temperatura, liberando os produtores e bacterívoros de um controle top-down (i.e., efeitos causado pelos predadores na teia trófica). Como consequência, houve aumento na produtividade primária e na ciclagem de nutrientes do sistema. Esse parece ser um padrão recorrente diante de um cenário de aquecimento global, em que organismos de níveis tróficos mais elevados são os mais afetados. Uma possível explicação seria o maior tamanho corporal destes organismos (Brose et al. 2012). O aumento de temperatura pode influenciar no metabolismo e fisiologia dos organismos, causando um aumento na proporção de organismos com tamanho corporal menor (Daufresne et al. 2009). Esse efeito é ainda mais intenso para organismos aquáticos, possivelmente em decorrência da menor quantidade de oxigênio disponível quando comparado aos organismos terrestres (Forster et al. 2012). Essa mudança na estrutura do tamanho e biomassa na comunidade pode influenciar nas relações tróficas da comunidade, tanto por modificação na razão estequiométrica de recursos quanto na atividade metabólica de consumidores (Brose et al. 2012, Ott et al. 2012). Por exemplo, a diminuição do tamanho corporal médio provoca um aumento da vulnerabilidade dos organismos (aumento do número de predadores) e diminuição na generalidade de consumo (diminuição do número de presas disponíveis) dos mesmos. Alterações nessas relações consumidor-recurso e dos efeitos em cascata podem influenciar profundamente processos ecossistêmicos importantes, como decomposição e ciclagem de nutrientes (Dossena et al. 2012).

A predação é considerada uma das principais forças na estruturação de comunidades ecológicas (Paine 1966, Terborgh & Estes 2010) e no funcionamento e estabilidade de ecossistemas (Terborgh & Estes 2010, Estes et al. 2011, Terborgh 2015).

Predadores podem provocar efeitos em cascatas ao longo da cadeia trófica através do consumo ou não de suas presas, alterando a densidade ou o comportamento das mesmas, respectivamente (Terborgh & Estes 2010). A força das interações tróficas e a direção dos efeitos em cascata são influenciadas pela identidade e diversidade dos predadores do sistema (Chalcraft & Reser 2003, Johnston et al. 2016). Nesse sentido, o efeito da predação em comunidades ecológicas e no ecossistema é demasiado complexo e de difícil predição. O efeito da diversidade de predadores, por exemplo, pode variar quanto a magnitude e direção. A alta diversidade de predadores pode aumentar o consumo de presas (Griffin et al. 2013) e o funcionamento ecossistêmico (e.g., produtividade primária) (Bruno & Cardinale 2008). Por outro lado, o aumento na diversidade de predadores também pode decrescer os efeitos em cascata através de interações intraguilda, com predadores consumindo ou afugentando outros predadores, amortecendo assim os efeitos top-down (Finke & Denno 2004, 2005). Adicionalmente, as respostas podem ser ainda mais complexas em cenários de mudança climática, devido à sensibilidade desses organismos às variações nos componentes do clima (Petchey et al. 1999, Marino et al. 2016, Romero et al. 2016). Dessa maneira, apesar do grande volume de estudos sobre o impacto de predadores na estrutura de comunidades (i.e., diversidade, abundância e biomassa dos organismos de diferentes espécies) e ecossistemas, muitas são as questões a serem respondidas, principalmente diante dos atuais impactos antropogênicos globais.

A destruição de ecossistemas naturais em decorrência das ações antrópicas tem causado uma perda significativa da biodiversidade com danos alarmantes nos ecossistemas globais (Pereira et al. 2010, Haddad et al. 2015). A perda e fragmentação de habitats nas últimas décadas tem provocado uma redução entre 13-75% na biodiversidade global, alterando também processos ecossistêmicos importantes, como produtividade e ciclagem de nutrientes (Haddad et al. 2015). Além disso, redução de habitats pode potencializar os efeitos de outros impactos antrópicos, como mudanças climáticas (Mantyka-Pringle et al. 2012) e perda de predadores (Petermann et al. 2015, Romero et al. 2016). De fato, algumas espécies chave no ecossistema são sensíveis ao tamanho habitat. Predadores de topo, por exemplo, dependem de maiores áreas de vida, e são fortemente afetados pela perda de habitat (Srivastava et al. 2008). Dessa maneira, alterações antrópicas distintas, como mudança no clima, perda de predadores e de habitat podem causar efeitos substanciais na biodiversidade e funcionamento de ecossistemas. Entretanto, faltam evidências empíricas sobre como esses diferentes impactos agem simultaneamente em diferentes componentes da biodiversidade e

ecossistema. Esses efeitos são ainda mais desconhecidos quando se trata de ambientes tropicais, com alta biodiversidade e complexidade ecossistêmica.

Ecossistemas aquáticos são muito vulneráveis as alterações ambientais, principalmente porque: i) muitas espécies que ali vivem têm movimentação limitada a ambientes exclusivamente aquáticos e, portanto, são incapazes de se dispersarem caso o ambiente se torne pouco favorável; ii) a temperatura da água é diretamente dependente da temperatura atmosférica e do clima local, podendo sofrer oscilações constantes e potencializar outras alterações no ambiente; iii) muitos destes sistemas já estão expostos à outras variáveis antropogênicas danosas (e.g., deposição excessiva de nitrogênio) (Woodward et al. 2010). Essas características tornam os ambientes aquáticos de fundamental importância para estudos que buscam investigar efeitos das mudanças climáticas em comunidades ecológicas (Walther 2010).

Apesar da ampla discussão sobre mudanças globais decorrentes de causas antropogênicas e suas potenciais consequências para a biodiversidade e ecossistemas, poucos estudos até o momento investigaram empiricamente essa relação em sistemas ecológicos ao nível de comunidade e ecossistema (Walther 2010). A carência de estudos é ainda maior em ambientes aquáticos. A maioria destes trabalhos é teórica ou realizada em regiões de clima temperado, sendo o ambiente tropical e especificamente neotropical pouco estudado. Um dos empecilhos no desenvolvimento de estudos empíricos sobre o assunto seria a dificuldade de investigar estes processos em campo, expostos ao ambiente natural, com replicações fiéis das unidades experimentais.

## **2. Bromélias como sistema modelo em ecologia**

Um potencial sistema modelo em ecologia são os microcosmos naturais, como ocos de árvores, plantas jarro carnívoras, entrenós de bambus e bromélias-tanque. O grande sucesso da utilização de microcosmos naturais na investigação de teorias ecológicas pode ser atribuído: (i) ao seu pequeno tamanho, que permite um número relativamente grande de réplicas, (ii) ao tempo de geração pequeno dos organismos que ali vivem, (iii) as condições climáticas naturais bem como as suas variações, (iv) podem ser consideradas réplicas fiéis de ambientes equivalentes maiores, com processos ecossistêmicos e cadeias tróficas complexas (Srivastava et al. 2004). Estes ambientes naturais que acumulam água, denominados fitotelmatas, abrigam uma grande variedade de organismos com ciclos de vida exclusivamente aquáticos (e.g., microfauna e bactérias) ou ciclos de vida complexo (e.g., insetos) (Kitching 2000). Vários estudos utilizaram bromélias-taque como sistema modelo na



investigação de relações tróficas aquáticas e suas interações com o clima e o sistema terrestre adjacente (Romero & Srivastava 2010, Marino et al. 2016, Romero et al. 2016) e processos ecossistêmicos importantes, como produtividade primária, decomposição e ciclagem de nutrientes (Ngai & Srivastava 2006, Romero et al. 2010, Romero & Srivastava 2010, Brouard et al. 2011).

Bromélias são plantas amplamente distribuídas na região neotropical, com folhas simples, alternas e espiraladas formando uma arquitetura foliar em formato de roseta, que permite acumular detritos orgânicos provenientes do dossel (caso a planta seja de área de floresta) ou carregados pelo vento (em áreas abertas). Algumas espécies de bromélias acumulam água da chuva nas axilas foliares formando microcosmos aquáticos naturais (fitotelmata) habitados por uma grande variedade de macro e micro-organismos (Kitching 2000, Frank & Lounibos 2008, Leroy et al. 2016). A matéria orgânica que é acumulada no fitotelmata serve como recurso alóctone para o ecossistema bromelícola, sendo a principal fonte primária de sustentação da ampla rede de interações tróficas ali existentes (Farjalla et al. 2016). O material alóctone é então processado por uma grande variedade de facilitadores detritívoros (e.g., trituradores, raspadores, coletores e filtradores) e decompositores (bactérias), e os nutrientes são absorvidos pela planta através de tricomas especializados existentes nas folhas (Benzing 2000, Romero et al. 2006).

Entre os principais predadores aquáticos desse sistema destacam-se as larvas de zigópteros e de tabanídeos (Diptera). Larvas de zigópteros são predadores vorazes nos ecossistemas bromelícolas caçando suas presas através de estratégia senta-e-espera e, podem afetar toda a comunidade de macroinvertebrados detritívoros aquáticos (e.g., alterando a riqueza e abundância das espécies de presas) (de Omena 2014), além de diminuir a emergência de algumas espécies de insetos (Starzomski et al. 2010). Adicionalmente, os zigópteros podem influenciar ainda processos ecossistêmicos importantes em bromélias como a ciclagem de nutrientes (Ngai & Srivastava 2006). Dentre os zigópteros, o gênero *Leptagrion* é especializado em viver em fitotelmata de bromélias (Corbet 1999). Na região sudeste do Brasil ocorrem duas espécies comuns deste gênero, *L. andromache* (Muzón et al. 2009) e *L. elongatum* (Costa et al. 2009). Já as espécies de tabanídeos que vivem em bromélias são muito pouco estudadas em relação ao seu papel no ecossistema bromelícola (Kitching 2000, Zillikens et al. 2005). Entretanto, sabe-se que tabanídeos são predadores vorazes em outros ecossistemas aquáticos (e.g., lagos e poças) tanto de invertebrados quanto de pequenos vertebrados (Jackman et al. 1983, Nowick & Eisner 1990), vivendo enterrados no substrato de

lama do fundo aquático capturando suas presas por emboscada (Jackman et al. 1983). Dessa maneira, tabanídeos podem exercer forte efeito na comunidade bromelícola, sendo o seu estudo fundamental para melhor entender as relações tróficas destes organismos e seu papel ecossistêmico.

### **3. Objetivos gerais**

Nesse estudo investigamos como diferentes mudanças ambientais (aquecimento e redução do tamanho do habitat) e tróficas (alteração na diversidade de predadores) afetam a biodiversidade e o funcionamento ecossistêmico (Fig.1). Nós utilizamos bromélias-tanque como sistema modelo para investigar os efeitos individuais e combinados do aquecimento (predito para as próximas décadas), da diversidade de predadores de topo e do tamanho do habitat:

**Capítulo 1.** Nos componentes da multifuncionalidade ecossistêmicas, mediado pela diversidade e biomassa da comunidade aquática.

**Capítulo 2.** Nos padrões de diversidade de grupos biológicos de diferentes níveis tróficos, i.e., bactérias, microfauna e macrofauna.

A tese contém dois capítulos com abordagens metodológicas recentes e questões científicas inéditas. O primeiro capítulo apresenta uma abordagem ecossistêmica com interface na ecologia de comunidades; e o segundo capítulo com abordagem ao nível de comunidade investigando diferentes padrões de diversidade taxonômica em grupos biológicos distintos e diversos.

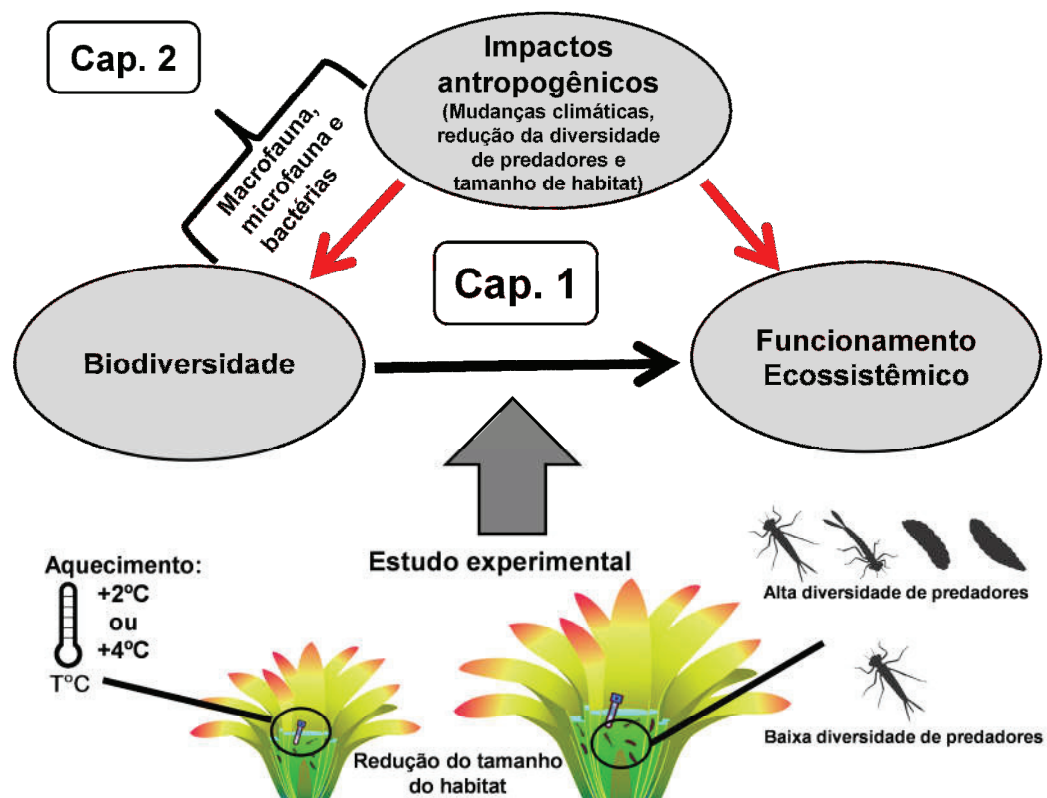


Fig.1. Síntese da abordagem experimental utilizada na tese. Neste estudo nós utilizamos bromélias-tanque como sistema modelo para investigar os efeitos individuais e combinados do aquecimento (predito para as próximas décadas), da alteração na diversidade de predadores de topo e redução do tamanho do habitat no funcionamento ecossistêmico, de maneira direta e através dos efeitos na biodiversidade (Cap.1), e nos padrões de diversidade da macrofauna, microfauna e bactérias (Cap. 2). Esquema ilustrativo mostrando cada manipulação experimental realizada. A montagem experimental, a replicação e a interação e distribuição dos fatores estão detalhadas nos artigos.

## Literatura citada

- Barton, B.T., Schmitz, O.J. 2009. Experimental warming transforms multiple predator effects in a grassland food web. *Ecology Letters* 12: 1317–1325.
- Benzing, D.H. 2000. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press.
- Brose, U., Dunne, J.A., Montoya, J.M., Petchey, O.L., Schneider, F.D., Jacob, U. 2012. Climate change in size-structured ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 367(1605), 2903-2912.
- Brouard, O., et al. 2011. Are algae relevant to the detritus-based food web in tank-bromeliads?. *PLoS One*, 6(5), e20129.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85:1771–1789.
- Bruno, J.F., Cardinale, B.J. 2008. Cascading effects of predator richness. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(10), 539-546.
- Byrnes, J. E., et al. 2014. Investigating the relationship between biodiversity and ecosystem multifunctionality: challenges and solutions. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(2), 111-124.
- Cardinale, B. J., et al. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486(7401), 59-67.
- Chapin, F. S. et al. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405, 234-242.
- Chapin III, F. S., Matson, P. A., & Vitousek, P. 2011. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer Science & Business Media.
- Chalcraft, D.R., Reserits, W.J. 2003. Predator identity and ecological impacts: functional redundancy or functional diversity?. *Ecology*, 84(9), 2407-2418.
- Cleland, E.E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H.A., Schwartz, M.D. 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in ecology & evolution*, 22(7), 357-365.
- Compton, J.E., et al. 2011. Ecosystem services altered by human changes in the nitrogen cycle a new perspective for US decision making. *Ecology Letters* 14:804 815.
- Corbet, P.S. 1999. Dragonflies: behavior and ecology of Odonata 1st Ithaca, NY, Comstock Publ. Assoc.
- Costa, J.M., Oldrini, B.B., Anjos-Santos, D. 2009. Eight new *Leptagrion* larvae from Brazil (Zygoptera, Coenagrionidae). *Odonatologica* 38: 93-111.

- Crick, H.Q.P., Dudley, C., Glue, D.E., Thomson, D.L. 1997. UK birds are laying eggs Earlier. *Nature* 388, 526
- Daufresne, M., Boët, P. 2007. Climate change impacts on structure and diversity of fish communities in rivers. *Global Change Biology*, 13(12), 2467-2478.
- Dossena, M., et al. 2012. Warming alters community size structure and ecosystem functioning. *Proc. R. Soc. B* 279:3011–3019.
- Duffy, J.E. 2003. Biodiversity loss, trophic skew and ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 6(8), 680-687.
- Duffy, J.E., Cardinale, B.J., France, K.E., McIntyre, P.B., Thébault, E., Loreau, M. 2007. The functional role of biodiversity in ecosystems: incorporating trophic complexity. *Ecology letters*, 10(6), 522-538.
- Estes, J. A., et al. 2011. Trophic downgrading of planet Earth. *science*, 333(6040), 301-306.
- Farjalla, V. F., et al. (2016). Terrestrial support of aquatic food webs depends on light inputs: a geographically-replicated test using tank bromeliads. *Ecology*, 97(8), 2147-2156.
- Finke, D.L., Denno, R.F. 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. *Nature*, 429(6990), 407-410.
- Finke, D.L., Denno, R.F. 2005. Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. *Ecology letters*, 8(12), 1299-1306.
- Forster, J., Hirst A.G., Atkinson D. 2012. Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. *PNAS* 109(47): 19310-19314.
- Frank, J.H., Lounibos, L.P. 2009. Insects and allies associated with bromeliads: a review. *Terrestrial arthropod reviews*, 1(2), 125-153.
- Greig, H.S., Kratina, P., Thompson, P.L., Palen, W.J., Richardson, J.S., Shurin, J.B. 2012. Warming, eutrophication, and predator loss amplify subsidies between aquatic and terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 18(2), 504-514.
- Griffin, J.N., Byrnes, J.E., Cardinale, B.J. 2013. Effects of predator richness on prey suppression: a meta-analysis. *Ecology*, 94(10), 2180-2187.
- Haddad, N. M., et al. 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, 1(2), e1500052.
- Hector, A., Bagchi, R. 2007. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*,

- 448(7150), 188-190.
- Hooper, D. U., et al. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs* 75(1): 3-35.
- Hooper, D.U., et al. 2012. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature* 486(7401): 105-108.
- Hames, R.S., Rosenberg, K.V., Lowe, J.D. Barker, S.E. & Dhondt, A.A. 2002. Adverse Effects of Acid Rain on the Distribution of the Wood Thrush *Hylocichla mustelina* in North America. *PNAS*. 99:11235-11240.
- IPCC 2002. Climate Change and Biodiversity. IPCC Technical Paper V. 84 pp.
- IPCC 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds) Core Writing Team, Pachauri RK, Meyer LA) (IPCC, Geneva, Switzerland, 2014).
- Jackman, R., Nowicki, S., Aneshansley, D.J., Eisner, T. 1983. Predatory capture of toads by fly larvae. *Science*, 222(4623), 515-516.
- Johnston, N.K., Pu, Z., Jiang, L. 2016. Predator identity influences metacommunity assembly. *Journal of Animal Ecology*.
- Kitching, R. L. 2000. Food webs and container habitats: the natural history and ecology of phytotelmata. Cambridge University Press.
- Kitching, R. L. 2001. Food webs in phytotelmata: "Bottom-up" and "top-down" explanations for community structure. *Annual Review of Entomology* 46:729-760.
- Loreau, M. 2010. Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1537), 49-60.
- Leroy, C., Carrias, J.F., Céréghino, R., Corbara, B. 2016. The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *Journal of Plant Ecology*, 9, 241–255.
- Mantyka-Pringle, C.S., Martin, T.G., Rhodes, J.R. 2012. Interactions between climate and habitat loss effects on biodiversity: a systematic review and meta-analysis. *Global Change Biology*, 18(4), 1239-1252.
- Marengo, J. A. 2007. Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade. Ministério do Meio Ambiente, Brasília-DF. 2ª Ed. 201 pp.
- Marengo, J.A., Nobre, C.A., Salati, E. & Ambrizi, T. 2007. Caracterização do clima

- atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do Século XXI. Sumário Técnico. Ministério do Meio Ambiente. MMA. 54 pp.
- Marengo, J. A., Jones, R., Alves, L. M. & Valverde, M. C. 2009. Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *International Journal of Climatology* 29:2241-2255.
- Marengo, J. A., Ambrizzi, T., da Rocha, R. P., Alves, L. M., Cuadra, S. V., Valverde, M. C., Torres, R. R., Santos, D. C. & Ferraz, S. E. T. 2010. Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Climate Dynamics* 35:1089-1113.
- Marino, N. A., Srivastava, D. S., MacDonald, A. A. M., Leal, J. S., Campos, A., Farjalla, V. F. 2016. Rainfall and hydrological stability alter the impact of top predators on food web structure and function. *Global Change Biology*.
- Metzger, J.P., et al. 2010. Brazilian law: full speed in reverse? *Science* 329: 276-277.
- Michalski, F., Norris, D., Peres, C.A. 2010. No Return from Biodiversity Loss. *Science* 329:1282.
- Muzon, J., Muñoz, S.W., Campos, R. 2009. Description of the bromeliad-dwelling final instar larva of *Leptagrion andromache* Hagen in Selys (Zygoptera: Coenagrionidae). *Zootaxa*, 2089, 65-68.
- Naeem, S. (Ed.). 2009. Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing: an ecological and economic perspective. Oxford University Press.
- Ngai, J.T., Srivastava, D.S. 2006. Predators accelerate nutrient cycling in a bromeliad ecosystem. *Science*, 314(5801), 963-963.
- Nowicki, S., Eisner, T. 1983 Predatory behavior of bombardier beetles by a tabanid fly larva. *Psyche* 90:119-122.
- de Omena, P.M. 2014. Effects of predators on bromeliad-aquatic arthropod communities and ecosystem functioning. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2014. Tese de Doutorado.
- O'Reilly, C. M., Alin, S. R., Plisnier, P. D., Cohen, A. S., McKee, B. A. 2003. Climate change decreases aquatic ecosystem productivity of Lake Tanganyika, Africa. *Nature*, 424(6950), 766-768.
- Ott, D., Rall, B.C., Brose, U. 2012. Climate change effects on macrofaunal litter decomposition: the interplay of temperature, body masses and stoichiometry.

- Phil. Trans. R. Soc. B 367:3025–3032.
- Pace, M.L., Cole, J.J., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F. 1999. Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 14:483–488.
- Paine, R.T. 1966. Food web complexity and species diversity. *American Naturalist*, 65-75.
- Paine, R.T. 1980. Food webs: Linkage, interaction strength, and community infrastructure. *Journal of Animal Ecology* 49:667–685
- Parnesan, C., et al. 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*. 399:579–583.
- Parnesan, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 37:637-669.
- PBMC-Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas (2013) Base Científica das Mudanças Climáticas. 1º Relatório de Avaliação Nacional. Volume 1. Rio de Janeiro: PBMC.
- Pereira, H.M., et al. 2010. Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science*, 330(6010), 1496-1501.
- Petchey, O.L., McPhearson, P.T., Casey, T.M., Morin, P.J. 1999. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature*, 402(6757), 69-72.
- Petermann J.S., et al. 2015 Dominant predators mediate the impact of habitat size on trophic structure in bromeliad invertebrate communities. *Ecology*, 96, 428–439.
- Ripple, W.J., et al. 2016. What is a Trophic Cascade?. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(11), 842-849.
- Romero, G.Q., Srivastava, D.S. 2010. Food-web composition affects cross-ecosystem interactions and subsidies. *Journal of Animal Ecology*, 79(5), 1122-1131.
- Romero, G.Q., et al. 2010. Nitrogen fluxes from treefrogs to tank epiphytic bromeliads: an isotopic and physiological approach. *Oecologia*, 162(4), 941-949.
- Romero, G.Q., Piccoli, G.C., de Omena, P.M., Gonçalves-Souza, T. 2016. Food web structure shaped by habitat size and climate across a latitudinal gradient. *Ecology*, 97(10), 2705-2715.
- Sala, O.E. et al. 2000. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science*. 287:1770-1774.
- Srivastava, D.S., et al. 2004. Are natural microcosms useful model systems for ecology?. *Trends in ecology & evolution*, 19(7), 379-384.
- Srivastava, D.S., Trzcinski, M.K., Richardson, B.A., Gilbert, B. 2008. Why are



- predators more sensitive to habitat size than their prey? Insights from bromeliad insect food webs. *The American Naturalist*, 172(6), 761-771.
- Srivastava, D.S., Cardinale, B.J., Downing, A.L., Duffy, J.E., Jouseau, C., Sankaran, M., Wright, J.P. 2009. Diversity has stronger top-down than bottom-up effects on decomposition. *Ecology*, 90(4), 1073-1083.
- Starzomski, B.M., Suen, D., Srivastava, D.S. 2010. Predation and facilitation determine chironomid emergence in a bromeliad-insect food web. *Ecological Entomology*, 35(1), 53-60.
- Stevens, C.J., Dise, N.B., Mountford, J.O., Gowing, D.J. 2004. Impact of Nitrogen Deposition on the Species Richness of Grasslands. *Science* 303: 1876-1879.
- Suttle K.B., Thomsen M.A., Power M.E. 2007. Species interactions reverse grassland responses to changing climate. *Science* 315:640–642.
- Terborgh, J., Estes, J.A. (Eds.). 2010. *Trophic Cascades: Predators, Prey, and the Changing Dynamics of Nature*. Island Press, Washington, DC.
- Terborgh, J.W. 2015. Toward a trophic theory of species diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(37), 11415-11422.
- Tilman, D., Wedin, D., Knops, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379(6567), 718-720.
- Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M., Siemann, E. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, 277(5330), 1300-1302.
- Walther, GR., et al. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*. 416:389-395.
- Walther, GR., et al. 2010. Community and ecosystem responses to recent climate change. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365, 2019–2024.
- Woodward, G., Perkins, D.M., Brown, L.E. 2010. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1549), 2093-2106.
- Zillikens, A., Gorayeb, I.D.S., Steiner, J., Marcondes, C.B. 2005. Aquatic larvae and pupae of *Fidena (Laphriomyia) rufopilosa* (Ricardo)(Diptera: Tabanidae) developing in bromeliad phytotelmata in the Atlantic forest of southern Brazil. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 78(4), 381-386.

## Artigo 1

### **Climate change, predator diversity and habitat size drive ecosystem multifunctionality**

Pablo Augusto P. Antiqueira<sup>1</sup>, Owen L. Petchey<sup>2</sup>, Gustavo Quevedo Romero<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biologia (IB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

<sup>2</sup>Institute for Evolutionary Biology and Environmental Studies, University of Zurich, Zurich, Switzerland

<sup>3</sup>Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia (IB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

*Artigo escrito segundo as normas da revista Nature climate change*

**Abstract:** Global changes can affect ecosystem functioning both directly by modifications in the physicochemical process, or indirectly, via impact on biotic metabolism and interactions. However, it is not clear how multiple anthropogenic drivers jointly affect community structure across different biological groups and trophic levels, and their effects on ecosystem multifunctionality (EMF). Here we conducted a field experiment in a tropical rainforest using tank-bromeliads as natural freshwater mesocosms to investigate how warming, smaller habitat size, and loss in predator diversity affect two components of EMF, directly and indirectly, mediated by diversity and biomass/density of micro and macroorganisms from distinct functional groups. Warming, lower predator diversity, and smaller habitat size all caused increased multifunctional ecosystem productivity (MEP). The effects of warming and habitat size were direct, whereas the effect of predator diversity loss was mediated via changes in the total diversity of macroorganisms. Multifunctional ecosystem metabolism (MEM) was not affected by any experimental driver. Our results provide empirical evidence that the warming scenarios predicted for the next decades, predator loss and habitat loss can increase physicochemical and nutrient dynamic, which can be dampened by the preservation of larger habitats and high species diversity from different trophic levels.

Ecosystem functioning is supported and affected by biotic components, such as predators, producers, and decomposers, and by abiotic factors, such as temperature, nutrient, and humidity, built within a complex network<sup>1</sup>. Much currently research focuses on how ecosystem functioning is affected by anthropogenic impacts such as biodiversity loss and abiotic environmental change<sup>2-4</sup>. Thus far, studies have mostly focused on the diversity effects of a single group or trophic level (i.e., horizontal diversity), usually plants, and the relationship with a single EF<sup>5</sup>. From such work, it is difficult to predict the impact of species loss across multiple trophic levels. The functional effect of different groups can interact, synergistically or antagonistically, due to the complex biological interactions (such as predation, mutualism, and competition) within and between trophic levels<sup>6-8</sup>. Moreover, the functional consequences of biodiversity loss could be enhance when multiple ecosystem functions are simultaneously accounted for (i.e., multifunctionality)<sup>9-11</sup> even across trophic levels<sup>8,12</sup>. So far, we know relatively little about how different biological groups, across multiple trophic levels, interact with each other to affect ecosystem multifunctionality (EMF) in the presence of abiotic drivers. This is important, since in natural systems many ecosystem functions occur at the same time, interact with each other, and can be affected positively or

negatively by environmental changes and biological diversity across different functional groups and trophic levels<sup>8,12</sup>.

Increased temperature can affect ecosystem functioning either directly by increasing biochemical reactions, or indirectly by altering important trophic relationships and community structure<sup>3,13</sup>. Temperature alters the metabolism and physiology of organisms<sup>14</sup>, with higher temperatures favoring the increase in the proportion of small-sized species<sup>15</sup>, most of them from lower trophic levels. This effect is even more pronounced for aquatic organisms, likely as a response to decreased oxygen availability at higher temperatures<sup>16</sup>. Changes in size biomass of organisms may influence trophic relationships of communities, by altering the metabolic activity of consumers, for instance<sup>17</sup>.

Moreover, habitat characteristics can also influence ecosystem functioning. Habitat size can influence ecosystem functioning by changing species diversity and biomass, affecting both community composition and trophic structure<sup>18-20</sup>. Furthermore, habitat loss can strengthen the impact of climate change on biodiversity<sup>20,21</sup>, which can have profound knock-on consequences for ecosystem functioning. Thus, environmental changes (e.g., warming and habitat loss) could cause distinct and substantial effects on ecosystem functions and multifunctionality by changing diversity (community diversity mediated indirect effects) and biomass (community productivity mediated indirect effects) of ecological communities<sup>8</sup>. It is not clear, however, whether community biomass or diversity is the more influential determinant of ecosystem functioning and multifunctionality.

Another common consequence of anthropogenic activities is predator loss, which can impact dramatically biodiversity and ecosystem functioning<sup>22,23</sup>, and consumer diversity can impact ecosystem more strongly than resource diversity<sup>12,24</sup>. For instance, small changes in consumer diversity can cause stronger effects on ecosystem functioning than changes in plants diversity<sup>6</sup>, even when multiple ecosystem functions are considered<sup>12</sup>. Predators play a critical role in maintaining the structure and stability of communities, and their removal may have a variety of cascading indirect effects on ecosystems<sup>22,25,26</sup>. Therefore, it is important to understand how predator diversity loss affects community structure and ecosystem multifunctionality in environmental change scenarios. Changes in predator diversity can alter cascading effects<sup>25,27</sup>, affecting EMF by decreasing the diversity and biomass of organisms from different taxa and trophic levels that directly affect the EMF<sup>8,12</sup>. However, the opposite outcome could occur in the presence of intraguild interaction, in which higher predator diversity could dampen the cascading effects on the ecosystem<sup>28</sup>. Furthermore, climate change

can alter the efficiency of predators, also changing cascading effects on different ecosystem process<sup>14</sup>. Thus, although interactive effects of warming, predator diversity loss, and habitat loss occur in natural systems, we lack empirical evidence about how the combination of these factors might affect ecosystem functioning and multifunctionality.

We conducted a manipulative field experiment to investigate how the loss of predator diversity and environmental changes (i.e., warming and reduced habitat size) affect ecosystem multifunctionality. We evaluated the direct and indirect (through changes in the diversity and abundance/biomass of bacteria [operational taxonomic unit-OTUs] and macroorganisms) effects on EMF in tank-bromeliads as aquatic model system (see Methods for details) (Fig 1). Tank-bromeliads are almost exclusive Neotropical plants and well-suited for studies of trophic and ecosystem relationships involving aquatic environments<sup>29,31</sup>. These aquatic environments support a rich fauna of microorganisms and metazoans in a detritus-based food web, which contributes to important ecosystem functions, such as decomposition, primary productivity and nutrient cycling<sup>29,31</sup>. Moreover, tank-bromeliads are easily replicable natural mesocosms and can be extremely useful tools to empirically test the influence of increased temperature, predator diversity and habitat size on the dynamics of natural ecosystems and trophic links, especially in neotropical environments<sup>19,20,29</sup>. To simulate warming, we placed heaters in the bromeliad tanks, (Fig 1B-C), and randomly within blocks assigned each tank to one of three treatment levels: i) control (current temperature), ii) average projected for 2040 (+2°C), and iii) 2100 (+4°C)<sup>32,33</sup>. We manipulate three levels of predation diversity orthogonally with warming treatments: 1) predator absence, 2) low diversity (only one predator species), composed by the most common aquatic top predator in our study system, *Leptagrion andromache* (Zygoptera), 3) high diversity (control), composed by four aquatic top predator species from tank-bromeliads, *Leptagrion andromache* (Zygoptera), *Leptagrion elongatum* (Zygoptera), *Stibasoma bicolor* (Tabanidae) and *Fidena rufopilosa* (Tabanidae). Our experiment followed a substitutive design, wherein the total number of predators in each treatment was kept the same. Substitutive designs ensure that differences between predator effects reflect real differences in diversity and not their relative abundance<sup>32</sup>. To test the effect of habitat size reduction on EMF, we manipulated the tank-bromeliad water-holding capacity, to create a gradient of habitat size (Fig. 1B-C), a proxy for habitat area lost<sup>19</sup>. Thus, each block (habitat size) received one of the nine treatment combinations (three levels of temperature x three levels of predator diversity) (Fig. 1B-C).

We used principal component analysis (PCA) to obtain different components of ecosystem multifunctionality (EMF) (see Methods for details). The first EMF component summarised covarying ecosystem functioning variables that are generally associated with ecosystem productivity (related to ammonification, chromophoric dissolved organic matter [CDOM], chlorophyll a, turbidity and  $^{15}\text{N}$  flux from detritus to bromeliads, see methods for details of each variable). The second EMF component summarized covarying ecosystem functioning variables associated with ecosystem metabolism (related to biomass detritus loss, dissolved  $\text{O}_2$  and pH). We also quantified EMF using the standard averaging approach, a well recognized method to evaluate multifunctionality<sup>10,35</sup>. We expected that predator diversity loss, temperature increase and habitat size reduction affect EMF, directly and indirectly through changes in community biomass and diversity (Fig. 1A). The strength of these factors, however, may vary according to EMF component (productivity or metabolism), community species diversity or biomass/density. Thus, we expected that changes in the diversity and abundance/biomass of macro and microorganisms due to changes in climate, habitat size reduction, and predator diversity loss may have distinct impacts on ecosystem multifunctionality (Fig. 1A). For example, decreases in diversity components may result in a decrease in EMF due to the well know relationship between B-EF<sup>8,9,12</sup>. Furthermore, environmental and trophic changes can interact in a synergistic or antagonistic way, which could potentiate or buffer the impact of each environmental driver. The climate change effects on EF, for instance, can be buffered by large habitats with high species diversity<sup>21</sup>.

Structural equation modelling revealed direct effects of treatments on MEP, and indirect effects of treatments mediated by altered community diversity. In contrast, the community standing stock was not affected by any experimental driver (Fig. 3). Warming, at +4°C treatments, and habitat size reduction directly increased the multifunctional ecosystem productivity (MEP) (Fig. 2A). In addition, predator diversity loss indirectly increased the MEP, by increasing the diversity of macroorganisms, which has itself a positive effect on MEP (Fig. 2A, Table1). Warming, predator diversity loss and habitat size reduction did not directly or indirectly affect the multifunctional ecosystem metabolism (MEM) (Fig. 2B).

Community diversity was the most sensitive community component to experimental drivers. Predator diversity loss had stronger effects on aquatic community diversity than warming scenarios (Fig. 2-3). Predator absence treatment increased total species diversity of macroinvertebrates by 14%, but did not influence the colonization by predators, bacteria or detritivore diversity (Fig. 2A). Low predator diversity had similar

effects that high predator diversity on total species diversity of macroinvertebrates, but decreased detritivore diversity by 13% (Fig. 2A). However, compared to predator absence treatment, the low predator diversity decreased detritivore diversity by 19% (contrasts test: 1spp x 0spp  $Z=4.780$ ,  $p<0.05$ ) and total species diversity of macroinvertebrates by 20% (contrasts test: 1spp x 0spp  $Z=3.04$ ,  $p<0.05$ ). Only detritivore diversity was affected by habitat size reduction, with less species of detritivores in smaller habitats (Fig. 2A).

Warming directly increased the multifunctional ecosystem productivity, confirming the prediction that climate warming can directly increase EMF, likely because of the increase in the rates of biochemical and metabolic reactions at higher temperatures<sup>36</sup>. We observed the same pattern when we analyzed all the ecosystem function in a single index (average multifunctionality index) (Fig. S3), indicating a consistent positive impact of warming on ecosystem function. In fact, multifunctional ecosystem productivity and average multifunctionality index were strongly correlated ( $R^2=0.70$ , Fig. S4). When we analyzed the individual ecosystem responses to warming, we observed the same pattern, i.e., an increase of chlorophyll *a* concentration (Fig. S5), ammonium (Fig.S6), turbidity (Fig.S7), detritus biomass loss (Fig.S8b), CDOM (Fig.S10b) and pH (Fig.S11). The positive impact of warming on organic matter production could be caused by the direct effect of temperature on leaching<sup>37</sup>, or indirectly by enhancing litter processing by detritivores<sup>38</sup> and decomposers<sup>39</sup>. We did not observe changes in the standing stock or diversity of macro organisms and bacterial in warming scenarios, suggesting that these indirect effects of temperature on EMF are weak in our system. However, we did not evaluate fungal responses to warming. Fungi are recognized for increasing decomposition rates and grow relatively well under higher temperature<sup>39</sup>. Thus, it is possible that warming affected the EMF both directly by increasing leaching and indirectly via increased fungi activity. The increase in temperature in our study may have accelerated biochemical reactions, increasing dissolved nutrient (e.g., ammonium), organic matter production (e.g., turbidity and CDOM), primary productivity (algae density) and, consequently, ecosystem multifunctionality. Thus, we demonstrated that a warming climate predicted to the next 100 years can increase the physicochemical and nutrient dynamic in freshwater systems.

Even though the aquatic top predator loss did not directly affect EMF, they caused strong indirect effects on MEP by increasing the total species diversity of macroinvertebrates (diversity mediated indirect effects). Therefore, predator impact on EMF was dependent of its impact on biodiversity. Predators that colonized the bromeliads (> 90% of mesopredators)



directly increased the ecosystem productivity, via biomass (Fig. 3A), likely by adding nutrients from excretion and wastes (i.e., feces and carcasses) to the ecosystem. It has been shown that predator loss and changes in trophic structure can strongly alter the flux of energy and matter in this ecosystem<sup>40-42</sup>, affecting many ecosystem functions and multifunctionality. The direct positive effects of colonizer predators and the indirect positive effects of top predators on ecosystem functioning, mediated by community diversity, demonstrate that predation regulates not only the biodiversity<sup>23</sup> but also ecosystem functioning<sup>41</sup>. In contrast, predator diversity loss did not affect the average multifunctionality index (Fig. S3), which emphasizes the importance of investigating separate ecosystem components responses to environmental drivers. Studies in terrestrial systems suggested that predators can be biotic multipliers<sup>43</sup> or can buffer effects of climate change<sup>44</sup>. In our study, predator loss increased MEP, decreased oxygen concentration (Fig. S8A) and, consequently, the physicochemical and nutrient dynamics in the freshwater system was increased by diversity mediated indirect effects, at the same direction that warming. Thus, we demonstrated that predator diversity conservation can play important roles in the maintenance of the system, and their lost can potentiate the climate change impacts on ecosystem multifunctionality. Trophic interactions are key for influencing and potentially reducing the impacts of climate change on ecosystems.

The habitat size reduction had strong direct impact on ecosystem multifunctionality, also by increasing the MEP. Changes in habitat size have been demonstrated in many ecosystems and are a serious threat for both terrestrial<sup>45</sup> and aquatic environments<sup>46</sup>. Our results showed that habitat size reduction and warming have similar direct impacts on EF. Smaller habitats increased MEP and many ecosystem functions, such as primary productivity (Fig. S5), organic matter production (Fig. S6-S7), nutrient cycling (Fig.S11) and pH (Fig.S12), but decreased the dissolved oxygen (Fig. 9A). These results indicated an increase in the physicochemical and nutrient dynamic, similarly to warming and predator loss effects. It is likely that environments with lesser water capacity the dissolved nutrient and organic matter were concentrated in the water (though this was not part of our experimental design), which may even increase the warming and predator loss effects. Changes in habitat size also affected the community structure, increasing the detritivore diversity, but had no significant effects in the diversity of other functional groups and community standing stock. Thus, changes in habitat size affected biodiversity, but impacts depended on the functional group<sup>19-20</sup>. The habitat size effect on the biodiversity component, however, did not result in changes on the EMF, suggesting the lack of indirect effects of



habitat size on ecosystem functioning. Our findings indicate that habitat loss may exacerbate the climate change and predator loss impacts on ecosystem functioning, which suggest the need of conservation and restoration of larger habitats as a potential alternative to ameliorate anthropogenic impacts on ecosystem.

Despite the modification in ecosystem productivity in response to warming, habitat size reduction, and predator diversity loss, there were no effects on ecosystem metabolism. Ecosystem metabolism refers to the energy and matter processed by all the organisms that comprise the ecosystem<sup>47</sup>. Because organisms that live in small freshwater ecosystems are often exposed to temperature and water fluctuations, they may be adapted to live in such volatile habitat, which may allow these ecosystems to be resistant or resilient to climate change<sup>48-49</sup>. The community diversity and biomass were indeed resistant to warming in our study. The tank-bromeliad system suffers higher natural temperature oscillation throughout the day (up to 13°C of variation). Such natural environmental pressure may permit biological adaptation causing resistance of the organisms and the ecosystem. Additionally, even for changes in predator diversity, which altered community diversity, there were no effects on MEM. This result suggests a potential metabolic stability in small freshwater ecosystems in response to multiple anthropogenic drivers. These results shed light on the understanding of how ecosystem works when faced with both biotic and abiotic changes. For example, some ecosystem properties can be more susceptible to environmental changes caused by anthropogenic impacts, such as climate change, predator and habitat loss, than others<sup>8</sup>. The variability in the responses according to ecosystem component investigated emphasizes the importance in consider multiple ecosystem properties to study ecosystem responses to global changes.

Our findings bring new understanding about the impact of environmental changes and predator diversity loss on freshwater ecosystem functioning. We were able to link the relative contribution of different environmental and biodiversity components on ecosystem multifunctionality through an empirical approach. The most susceptible element of EMF was the multifunctional ecosystem productivity. We demonstrated that climate warming and habitat size reduction had strong direct effects on MEP. Furthermore, predator loss indirectly increased MEP by influencing the diversity of other organisms, which may intensify the warming and predator loss impact on ecosystem. Macrofauna diversity was the most important community component to ecosystem functioning as opposed to biomass or density of the organisms. The variation in EMF responses to environmental and trophic drivers

suggests the importance to investigate different properties of EMF in response to global changes. In spite of long-standing interest in the importance of environmental changes and predator diversity loss, up to now we did not know how they interact to affect ecosystem multifunctionality properties. We demonstrated that anthropogenic drivers such as the warming, habitat size reduction and predator loss scenarios predict to next decades can increase ecosystem productivity. The continuous increase in ecosystem productivity in response to anthropogenic factors could be an alarming sign. The increase in organic matter and nutrient dissolved in the water, as well as algal density, can generate eutrophication in freshwater systems<sup>50</sup>. Thus, habitat size reduction, predator loss and warming could stimulate the eutrophication occurrence in long-term, which could be ameliorated by maintaining larger habitats with high diversity of predator species. The complex responses of the ecosystems to climate change, predator diversity loss, and habitat size reduction highlight the critical role of maintaining the environment with balanced abiotic conditions and biodiversity components.

## References

1. Chapin, F. S. *et al.* Consequences of changing biodiversity. *Nature* **405**, 234–242 (2000).
2. Walther, G. R. Community and ecosystem responses to recent climate change. *Phil. Trans. R. Soc. B* **365**, 2019–2024 (2010).
3. Woodward, G., Perkins, D. M. & Brown, L. E. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Phil. Trans. R. Soc. B* **365**, 2093–2106 (2010).
4. Hooper, D. U., *et al.* A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature* **486**, 105–108 (2012).
5. Hooper, D. U. *et al.* Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs* **75**, 3–35 (2005).
6. Duffy, J. E., *et al.* The functional role of biodiversity in ecosystems: incorporating trophic complexity. *Ecology letters* **10**, 522–538 (2007).
7. Srivastava, D. S. & Bell, T. Reducing horizontal and vertical diversity in a food web triggers extinctions and impacts functions. *Ecol. Lett.* **12**, 1016–1028 (2009).
8. Soliveres, S., *et al.* Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature* **536**, 456–459 (2016).

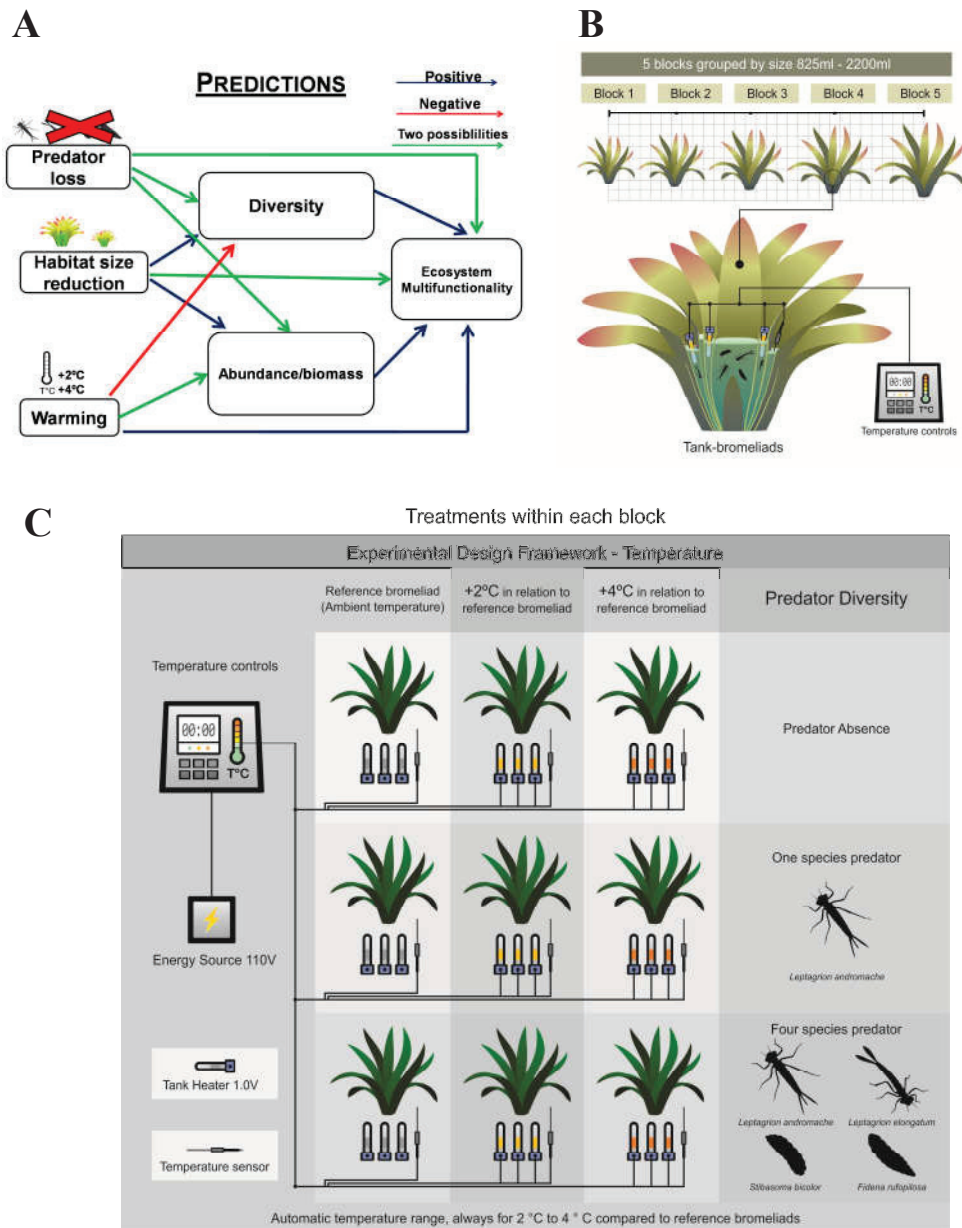
9. Hector, A. & Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* **448**, 188-190 (2007).
10. Maestre, F.T., *et al.* Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science* **335**, 214-218 (2012).
11. Jing, Xin, *et al.* The links between ecosystem multifunctionality and above-and belowground biodiversity are mediated by climate. *Nat.commun.* **6**, 8159 (2015).
12. Lefcheck, J.S., *et al.* Biodiversity enhances ecosystem multifunctionality across trophic levels and habitats. *Nat.commun.* **6**, 6936 (2015).
13. Petchey, O. L., McPhearson, P. T., Casey, T. M. & Morin, P. J. Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature* **402**, 69-72 (1999).
14. Vucic-Pestic, O., Ehnes, R. B., Rall, B. C. & Brose, U. Warming up the system: higher predator feeding rates but lower energetic efficiencies. *Glob. Chang. Biol.* **17**, 1301-1310 (2011).
15. Daufresne, M., Lengfellner, K. & Sommer, U. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 12788-12793 (2009).
16. Forster, J., Hirst, A. G. & Atkinson, D. Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **109**, 19310-19314 (2012).
17. Brose, U., Dunne, J.A., Montoya, J.M., Petchey, O.L. Schneider, F.D. Climate change in size-structured ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. B* **367**, 2903–2912 (2012).
18. Dobson, A., *et al.* Habitat loss, trophic collapse, and the decline of ecosystem services. *Ecology* **87**, 1915-1924 (2006).
19. Srivastava, D. S., Trzcinski, M. K., Richardson, B. A., Gilbert, B. Why are predators more sensitive to habitat size than their prey? insights from bromeliad insect food webs. *Am. Nat.* **172**, 761-771(2008).
20. Romero, G. Q., Piccoli, G. C., de Omena, P. M. & Gonçalves-Souza, T. Food web structure shaped by habitat size and climate across a latitudinal gradient. *Ecology* **97**, 2705-2715 (2016).
21. Mantyka-pringle, C. S., Martin, T. G. & Rhodes, J. R. Interactions between climate and habitat loss effects on biodiversity: a systematic review and meta-analysis. *Glob. Chang. Biol.* **18**, 1239-1252 (2012).

22. Estes, J. A., *et al.* Trophic downgrading of planet Earth. *Science* **333**, 301-306 (2011).
23. Terborgh, J. W. Toward a trophic theory of species diversity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **112**, 11415-11422 (2015).
24. Srivastava, D.S., *et al.* Diversity has stronger top-down than bottom-up effects on decomposition. *Ecology* **90** (4): 1073-1083 (2009).
25. Bruno, J. F. & Cardinale, B. J. Cascading effects of predator richness. *Front Ecol Environ* **6**, 539-546 (2008).
26. Schmitz, O. J., Hawlena, D. & Trussell, G. C. Predator control of ecosystem nutrient dynamics. *Ecol. Lett.* **13**, 1199-1209 (2010).
27. Schmitz, O. J. Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* **88**, 2415-2426 (2007).
28. Finke, D. L. & Denno, R. F. Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. *Ecol. Lett.* **8**, 1299-1306 (2005).
29. Srivastava, D. S., *et al.* Are natural microcosms useful model systems for ecology?. *Trends Ecol. Evol.* **19**, 379-384 (2004).
30. Romero, G. Q. & Srivastava, D. S. Food-web composition affects cross-ecosystem interactions and subsidies. *J. Anim. Ecol.* **79**, 1122-1131 (2010).
31. Leroy, C., Carrias, J. F., Céréghino, R. & Corbara, B. The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *J. Plant. Ecol.* **9**, 241–255 (2016).
32. IPCC-AR5. *International Panel on Climate Change Climate Change: the Physical Science Basis Working Group 1 Contribution to the Fifth Assessment Report of the International Panel on Climate Change International Panel on Climate Change*. (Cambridge New York, 2013).
33. PBMC-Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas: *Base Científica das Mudanças Climáticas. 1º Relatório de Avaliação Nacional*. (Rio de Janeiro, 2013).
34. Sih, A., Englund, G. & Wooster, D. Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends. Ecol. Evol.* **13**, 350-355 (1998).
35. Byrnes, J. E. K., *et al.* Investigating the relationship between biodiversity and ecosystem multifunctionality: challenges and solutions. *Methods Ecol. Evol.* **5**, 111-124 (2014).

36. Brown, J. H. *et al.* Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* **85**, 1771–1789 (2004).
37. Chergui, H. & Pattee, E. The processing of leaves of trees and aquatic macrophytes in the network of the River Rhone. *Intern. Revue Hydrobiol. Hydrogr.* **75**, 281-302 (1990).
38. González, J. M. & Graça, M. A. S. Conversion of leaf litter to secondary production by a shredding caddis-fly. *Freshwater Biol.* **48**, 1578-1592 (2003).
39. Ferreira, V. & Chauvet, E. Synergistic effects of water temperature and dissolved nutrients on litter decomposition and associated fungi. *Glob. Chang. Biol.* **17**, 551-564 (2011a).
40. Ngai, J. T. & Srivastava, D. S. Predators accelerate nutrient cycling in a bromeliad ecosystem. *Science* **314**, 963-963 (2006).
41. Ripple, W.J., *et al.* Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science* **343**, 1241484 (2014).
42. Atwood, T.B., *et al.* Predators help protect carbon stocks in blue carbon ecosystems. *Nat. Clim. Change* **5**, 1038-1045 (2015).
43. Zarnetske, P.L., Skelly, D.K., Urban, M. C. Biotic multipliers of climate change. *Science* **336**, 1516-1518 (2012).
44. Wilmers, C.C., Getz, W.M. Gray wolves as climate change buffers in Yellowstone. *PLoS Biol.* **3**, e92 (2005).
45. Haddad, N. M., *et al.* Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances* **1**, e1500052 (2015).
46. Dudgeon, D. in *Global environmental change* (eds. Freedman, B.) 243-253 (Springer Netherlands, 2014).
47. Alexander, D. E. & Fairbridge, R. W. (Eds.). *Encyclopedia of environmental science*. (Springer Science & Business Media, 1999).
48. De Senerpont Domis, L. N., *et al.* Plankton dynamics under different climatic conditions in space and time. *Freshwater Biol.* **58**, 463-482 (2013).
49. Gruner, D.S., *et al.* Effects of experimental warming on biodiversity depend on ecosystem type and local species composition. *Oikos* DOI: 10.1111/oik.03688 (2016).

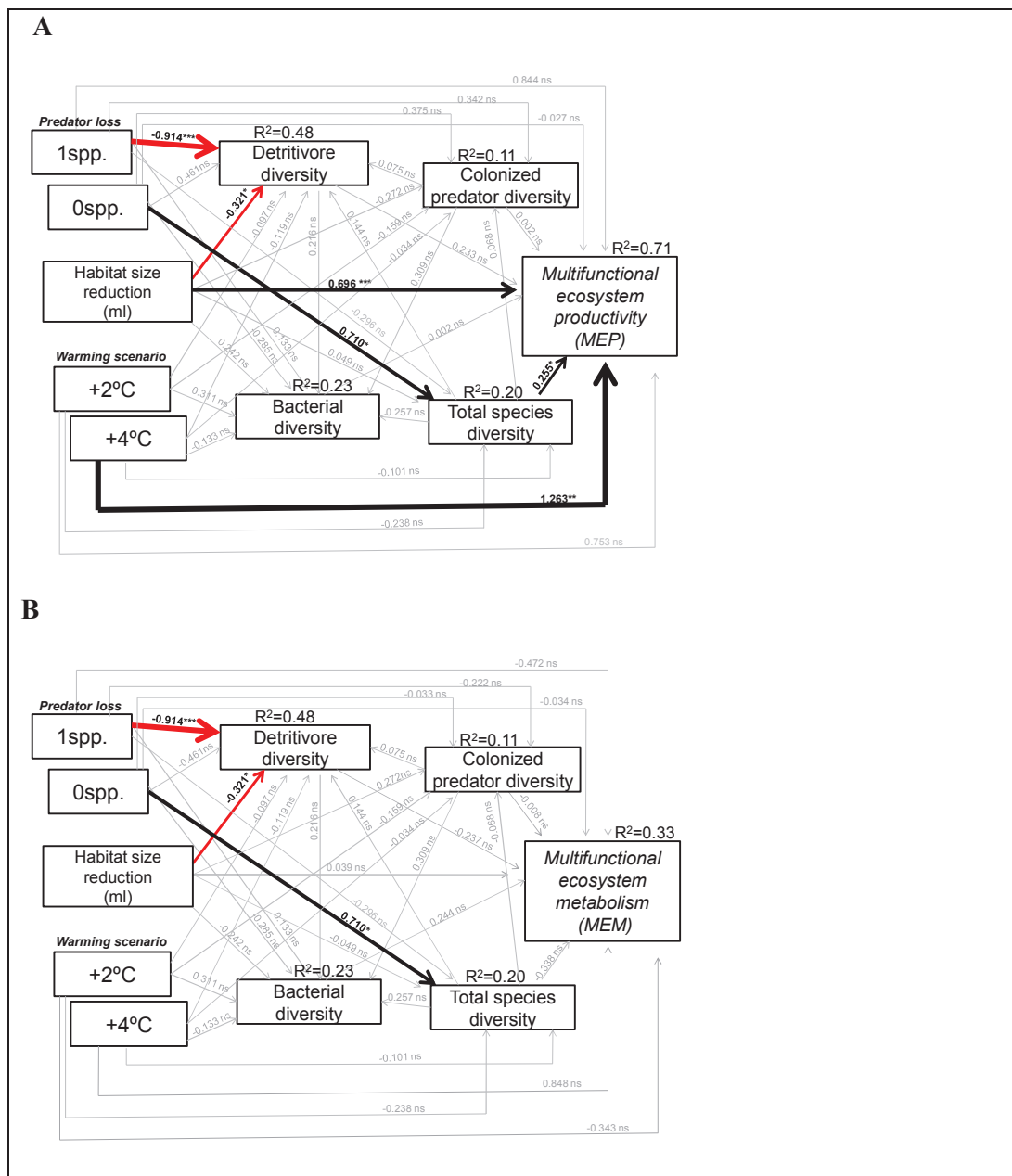
50. Ansari, A. A., Gill, S. S. & Khan, F. A. in *Eutrophication: causes, consequences and control* (eds. Ansari, A.A., Gill, S.S., Lanza, G.R., & Rast, W.) 143-170 (Springer Netherlands, 2010).

## **Figures and Tables**



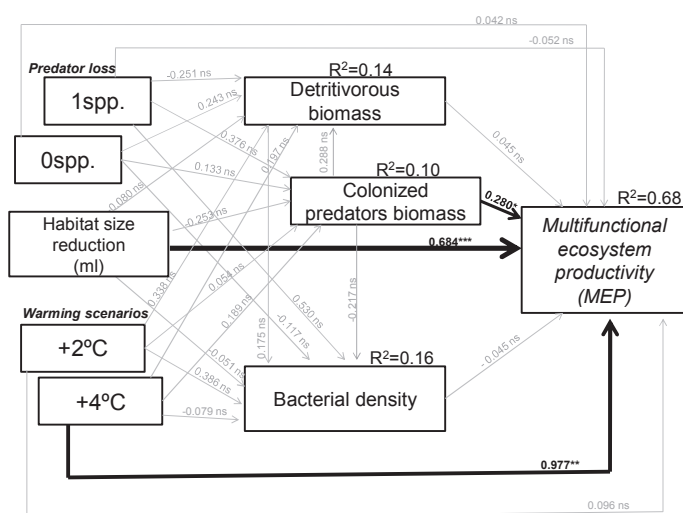
**Figure 1|Conceptual framework and experimental design. a**, Main predictions on the positive and negative effects of warming, predator diversity and habitat size direct and indirect via changes in community diversity and biomass/abundance of aquatic organisms on ecosystem multifunctionality. Blue arrows denote positive effects, red arrows denote negative effects and green arrows denote both possibilities (see text). Diagram of the field experiment design: **b**, illustration of the distribution of the blocks set up as a gradient of bromeliad size (bromeliad water-holding capacity in mL), and the details of heaters, temperature sensor and predators inside tank-bromeliad mesocosm; **c**, nine treatment combinations per block, (five blocks). Warming was composed by three temperature levels: i) control (current temperature), ii) average projected for 2040 (increase in 2°C) and iii) 2100 (increase in 4°C). Predator diversity treatments had three levels combined orthogonally with warming treatments: 1) predator absent (control), 2) low predator diversity (one predator species) and 3) high predator diversity (four predator species).



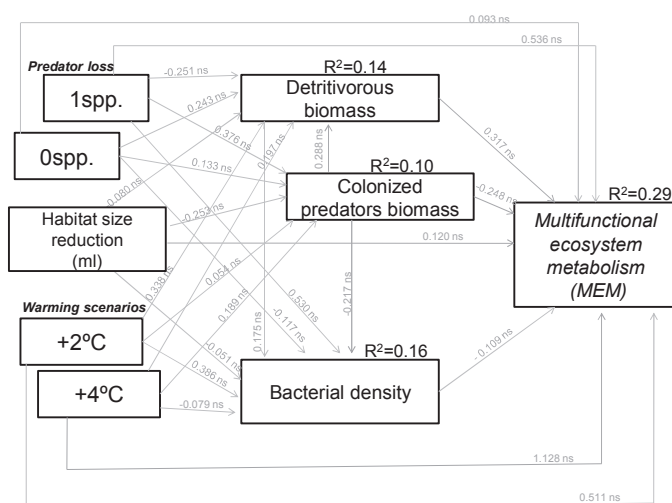


**Figure 2 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on community diversity (detritivores, bacterias, colonizer predators and total species diversity) and on: a, multifunctional ecosystem productivity (MEP), b, multifunctional ecosystem metabolism (MEM).** Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise S.E.M), solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise S.S.M). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are in grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables. Fisher's  $C = 8.57$ ;  $P = 0.380$ ;  $AIC = 106.57$ ;  $AICc = -873.43$ . Note that only effect sizes connected to MEP and MEM should differ between the two panels.

A



B



**Figure 3 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on community biomass/density (detritivores, colonizer predators and bacteria) and on: a, multifunctional ecosystem productivity (MEP), b, multifunctional ecosystem metabolism (MEM).** Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise S.E.M), solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise S.S.M). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are in grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables. Fisher's  $C = 1.19$ ;  $P = 0.978$ ;  $AIC = 77.19$ ;  $AICc = 571.19$ . Note that only effect sizes connected to MEP and MEM should differ between the two panels.

**Table 1 | Structural equation model coefficients of the direct and indirect effects of the environmental drivers (i.e., warming scenarios and habitat size reduction) and predator diversity loss on the multifunctionality ecosystem properties. Significant effects are indicate in bold ( $P < 0.05$ ).**

	Experimental Driver	Productivity	Metabolism	Average
Predator diversity loss				
- Direct effects	1 spp	0.844	-0.472	0.066
	0 spp	-0.027	-0.034	-0.348
Indirect effects:				
-Detritivore diversity	1 spp	-0.213	0.216	-0.035
	0 spp	0.107	-0.109	0.018
-Colonized predator diversity	1 spp	0.001	0.002	0.005
	0 spp	0.001	0.000	0.006
-Bacterial diversity	1 spp	0.000	0.032	0.034
	0 spp	-0.001	-0.070	-0.026
-total species diversity	1 spp	-0.075	0.100	-0.015
	0 spp	<b>0.181</b>	-0.240	0.016
-detritivore biomass	1 spp	-0.011	-0.080	-0.056
	0 spp	0.011	0.077	0.054
-colonized predator biomass	1 spp	0.105	-0.093	0.060
	0 spp	0.037	-0.033	0.021
-bacterial density	1 spp	-0.024	-0.058	-0.078
	0 spp	0.005	0.013	0.017
Warming scenarios				
- Direct effects	+2°C	0.753	-0.343	0.420
	+4°C	<b>1.263</b>	0.848	<b>1.075</b>
Indirect effects:				
-Detritivore diversity	+2°C	-0.022	0.023	-0.004
	+4°C	-0.028	0.028	-0.005
-Colonized predator diversity	+2°C	-0.000	0.001	-0.001
	+4°C	-0.000	0.000	-0.001
-Bacterial diversity	+2°C	0.001	0.076	0.028
	+4°C	-0.000	-0.032	-0.012
-total species diversity	+2°C	-0.061	0.080	-0.006
	+4°C	-0.026	0.034	0.004
-detritivore biomass	+2°C	0.015	0.107	0.076
	+4°C	0.009	0.062	0.044
-colonized predator biomass	+2°C	0.015	-0.013	0.009
	+4°C	0.053	-0.047	0.030
-bacterial density	+2°C	-0.017	-0.042	-0.057
	+4°C	0.003	0.009	0.012
- Direct effects		<b>0.696</b>	0.039	<b>0.535</b>
Indirect effects:				
Habitat size reduction				
-Detritivore diversity		-0.075	0.076	-0.012
-Colonized predator diversity		-0.001	0.002	-0.004
-Bacterial diversity		-0.001	0.059	0.022
-total species diversity		0.012	-0.016	0.001
-detritivore biomass		-0.004	-0.025	-0.018
-colonized predator biomass		-0.071	0.063	-0.041
-bacterial density		0.002	0.005	0.007

## Acknowledgements

The authors thank A.L. Mendonça, J. T. Macedo, B.M. de Oliveira, P.M. de Omena, G.H. Migliorini for fieldwork help and invertebrate surveys; V.P.Santos and V.M. Oliveira for bacterial analyses. The Predictive Ecology group and LimBio group for valuable comments in first results version. S.A. Vieira, H.M.P.M Sarmiento, S.F. Reis, M.M. Pires, M.F.K. Becker, P.M. Omena and T. Gonçalves-Souza for valuable comments in first manuscript version. This study was supported by a São Paulo Research Foundation (FAPESP) grant, coordinated by G. Q. Romero. P.A.P. Antiqueira received a PhD scholarship from the FAPESP (Proc. N° 2014/04603-4). G.Q. Romero was also supported by a CNPq-Brazil research grant.

## Author contributions

P.A.P.A, O.L.P and G.Q.R designed the experiments. P.A.P.A. performed the experiments. PAPA and O.L.P analyzed the data. P.A.P.A, O.L.P and G.Q.R wrote the paper.

## Competing financial interests

The authors declare no competing financial interests.

## Methods

### *Study site and system*

The study was performed at the Parque Estadual da Serra do Mar, nucleo Picinguaba, an Atlantic Rainforest State Park located on the north coast of São Paulo state, Brazil. We conducted the experiment in a Restinga forest, characterized by long ranges of sandy marine deposits found along the Brazilian coast<sup>51</sup>. The vegetation of Restinga is adapted to the conditions of intense salinity and solar radiation<sup>52</sup>. Herbs, shrubs and short trees comprise the vegetation. The trees could reach up to 15 m tall and they often harbor epiphytes, especially bromeliads. In these ecosystems, bromeliads facilitate the establishment of other plant species<sup>53</sup> and function as biodiversity amplifiers by promoting resources to different groups of animals<sup>54-55</sup>.

We used in the experiment was *Neoregelia johannis* (Carriere) LB Smith. (Bromeliaceae) an abundant bromeliad species in southeast coast of Brazil. This bromeliad

species can reach large sizes with leaves of 1m long in shaded areas. The phytotelmata formed by the leaves can accumulate more than two liters of rainwater<sup>56</sup>. This ecosystem is inhabited by a rich fauna of microorganisms and metazoans, forming a complex detritus base food web supported mainly by alloctone detritus (e.g., dry leaves) falling from forest trees<sup>31,57,58</sup>. The aquatic macrofauna is diverse and comprised mainly by insect larvae of the Diptera order. The major aquatic predators of this system are damselflies and horseflies larvae. Damselfly larvae are voracious predators in bromeliads ecosystem, hunting their prey using sit-and-wait strategy, which can affect the whole macroinvertebrate community, as well as decrease the emergence of some species of insects<sup>59</sup>. Additionally, damselfly can also influence important ecosystem processes in bromeliads such as nutrient cycling<sup>40</sup>. The *Leptagrion* (Odonata: Coenagrionidae) is a damselfly genus specialized in bromeliads phytotelmata<sup>60</sup>. In southeastern Brazil, the two most common species of this genus are *L. andromache*<sup>61</sup> and *L. elongatum*<sup>62</sup>. The role of horseflies larvae in the tank-bromeliad ecosystem is poorly understood<sup>63-64</sup>. It is known, however, that horseflies larvae live buried in the mud substrate of water bottom<sup>65</sup> (Jackman et al., 1983) and are voracious predators of other aquatic ecosystems preying upon both invertebrates as well as small vertebrates<sup>65-66</sup>. Thus, horseflies and damselflies can exert significative impacts on the tank-bromeliads aquatic community, changing trophic structure and ecosystem functioning.

#### *Experimental design*

We test the individual and interactive effects of warming (expected within the climate change scenario in Brazil for the next 100 years), predator diversity and habitat size on multiple aquatic ecosystem functions (e.g., productivity, decomposition, and nutrient cycling) of tank-bromeliad phytotelmata. The experiment followed a randomized block design grouped by bromeliad water capacity (tank capacity: 825-2200 mL, Fig. 1B). To set up the experiment, we used 45 *Neoregelia johannis* bromeliads. We carefully washed each bromeliad to remove detritus and invertebrates. To evaluate the founder invertebrate community, we randomly selected 15 bromeliads naturally occurring in our field site. We separated, counted and identified the macroinvertebrates. We then added the same number of macroinvertebrates from the most common functional groups found in *Neoregelia johannis* (e.g., collectors, shredders, scrappers, filter-feeders and mesopredators). By doing this, we equalized abundances of the main invertebrate groups, and detritus amounts in each experimental bromeliad. For the experiment we used 45 individuals of *N. johannis* bromeliads previously washed and treated with 5% sodium hypochlorite and antibiotics to

remove macroinvertebrates and unnatural bacteria from the study area (T. Bernabé, unpublished data). After this, the plants were washed again, measured and taken to the field for experimentation. In the first day of the experiment, we transplanted the experimental bromeliads to the sandy substrate of our field site. We then filled the tanks up with a mix of rainwater and bromeliad water (50% of each one), to promote microorganismal colonization. We then replaced the water from the tank-bromeliads lost by evaporation every two days with rainwater. To prevent naturally rainwater from going into the bromeliads, we covered each bromeliad using shelters constructed with wire and transparent plastic sheet.

To simulate warming we used a heating system consisted of heaters and temperature sensors with a temperature control system and digital monitoring. The warming treatment was composed of three temperature levels: i) control (current temperature), ii) average projected for 2040 (increase in 2°C), and iii) 2100 (increase in 4°C)<sup>32-33</sup>. The reference temperature (e.g., from control bromeliads) is transmitted to the first temperature controller that transfers the temperature value to a second controller that regulated the heaters from the second plant to increase the temperature by 2 ° C (estimate to 2040). Additionally, a third controller heater was connected to the second, and increased the heater temperature by 2 ° C in relation to the second controller and by 4 ° C (prediction for 2100) compared to the ambient temperature (Figure 1B-C). Therefore, we simulated the value of temperature delta between the controls and the heated plants (Fig.S1). Thus, the biological system replicated the natural variation of temperature day and night simulating the real daily variation. The increased temperature used was realistic because we used forecasts for both optimistic (+ 2 ° C) and pessimists (+ 4 ° C) scenarios. The method we used is original and potentially more realistic than manually heated systems that use underwater heaters, increasing the temperature at regular time intervals. Our heating system was based on the field site temperature, and we used automatic temperature controllers connected to the Total Control<sup>®</sup> software. This ensured a constant increase of 2 ° C and 4 ° C in the warming treatments (Fig.S1). The software was connected to all controllers and allowed a digital access to each plant, measuring the temperature variation throughout the experiment (HMI - DOP-B10E615 - 10.1 ") (Figure 1B-C).

To evaluate the impacts of predation diversity loss on EMF, we manipulated three levels of predation diversity fully crossed with the warming treatments: 1) no predator, 2) low diversity (one species of predator), comprised by the most common aquatic top predator in our study system, *Leptagrion andromache* (Zygoptera), and 3) high diversity (control),

comprised by four aquatic top predators species from tank-bromeliads phytotelmata, *Leptagrion andromache* (Zygoptera), *Leptagrion elongatum* (Zygoptera), *Stibasoma bicolor* (Tabanidae) e *Fidena rufopilosa* (Tabanidae). We added the same number of individuals to all the treatments that received a predator species following a substitutive design<sup>34</sup>. After 30 days of the experiment, we added the same number of individuals again to account for predator deaths. In the higher diversity treatment, each horsefly species of predator were added at different times because we did not find at the field the same species of the onset of experiment for the second addition of predators. By the end of the experiment, we added a total of six predator individuals in each treatment of predation. . To test the effect of habitat size on ecosystem functioning, we organized each block by tank-bromeliad total volume, following a gradient of size (Fig. 1B-C). To test the effect of habitat size reduction on EMF, we grouped the plants (block) by their tank-bromeliad total volume size to ensure a gradient of habitat size (Fig. 1B-C). The total volume (ml) is measured as the total water capacity the plant can support before overflowing and is a proxy for habitat size<sup>19</sup>. It ranges from 825ml to 2200ml in our experimental plants, simulating the current decreases of habitat area. Thus, we fully crossed the two factors (temperature and predator diversity) in each block (Fig. 1B-C). Each block consisted of nine treatments randomly distributed, for a total of five blocks. The study was carried out from April to July 2014, when insect abundance is at its highest.

#### *Microorganisms and macrofauna*

To investigate macroinvertebrate responses we carefully dissected and washed each leaf of all bromeliads at the end of the experiment (after 75 days). This method ensures that all macroinvertebrates are sampled. We collected all detritus and water in white trays and fractionated them with two soil sieves (125 and 800  $\mu$ l) to aid invertebrates sampling. We recorded the size, biomass, abundance and species/morphospecies of all aquatic invertebrates visible to the naked eye ( $\sim > 0.5$  mm)<sup>30</sup>. We sampled a total of 19,004 individuals of 84 morphospecies of macroinvertebrates.

We measured the following response variables related to diversity and biomass of macroinvertebrate community: i) detritivore diversity: number of species of the macroinvertebrate detritivores in each bromeliad, ii) colonizer predator diversity: number of species of macroinvertebrate predators that colonized the bromeliads; iii) total species diversity: obtained using the exponential Shannon entropy index, which is one of the best and



realistic diversity measure<sup>67</sup>; iv) detritivore and predators biomass: mean biomass of the species obtained by allometric equations or weight average per species.

Additionally, at the end of the experiment we sampled the water and the detritus for bacterial analyses. We conducted a Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) to obtain bacterial operational taxonomic unit (OTU) (hereafter bacterial diversity)<sup>68-69</sup>. The denaturing gradient (urea and formamide) of the gel used for separation of the DNA fragments was 30% to 65%. We analyzed the images of the gels using the Bionumerics software (version 6.6; Applied Maths, Kortrijk, Belgium), after conversion and normalization of the profiles, and using the bands present in all samples as standard. The bands profiles were combined in a single image and analyzed by three methods: 1) by bands, where the bands were automatically selected by the program and visually inspected and corrected, and using the DICE coefficient; 2) by the Jaccard coefficient with (band tolerance of 5%); And 3) by curve using the Pearson correlation coefficient. We then generated a presence and absence matrix for each of the analyzed samples. Despite the DGGE technique usually samples the most abundant microorganisms, it has been proven to be a valuable tool for rapidly detect profiles of diversity in microbial communities<sup>69</sup>. We quantified bacterial density using real-time PCR. The DNA extraction determines the number of copies of the gene that encodes the rRNA 16S (rrs) present in each sample. For the extraction of the total DNA from the microbial community, we homogenized the samples in a vortex shaker and used an aliquot of 500uL, including water and debris, for the extraction. Genomic DNA was extracted using the PowerSoil DNA Isolation Kit (Mobio). The primers used were P1 and P2<sup>68</sup> and the PCR reaction was performed with a total volume of 20 ul containing: 10 ul of Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA), 20 µM of each primer and From 1 to 3 ul of the DNA extracted from the sample. After the amplification, the melting curve was used to verify possible primer dimers or contaminations. Data collection was performed during the extension step (72 ° C). For sample quantification a standard curve was constructed by cloning an amplified 16S rDNA fragment with primers 10F and 1100R. After cloning, the plasmids were extracted, linearized, purified and quantified. In each qPCR reaction, these plasmids were added in the amounts of 108, 107, 106, 105 and 104 copies for absolute quantification. This procedure is commonly used to estimate the density of bacteria (n° of cells)<sup>70,71</sup>. These analyses were conducted at the CPQBA - Chemical, Biological and Agricultural Pluridisciplinary Research Center, at UNICAMP - Campinas State University, in the city of Paulinia, State of Sao Paulo, Brazil.



### *Ecosystem functions*

We sampled eight important ecosystem processes that occur in tank-bromeliad phytotelmata. The detrital breakdown was measured as mass loss of detritus [fallen *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) leaves]. Bromeliads can obtain allochthonous sources of nitrogen from detritus or invertebrate carcasses and feces through specialized leaf trichomes<sup>72,73</sup>. To sample the function related to nitrogen flux from detritus to bromeliads, we previously enriched the *E. uniflora* plants with <sup>15</sup>N-ammonium sulfate salts. At the end of the experiment, we clipped two new bromeliad leaves from the innermost node of each experimental bromeliad for isotopic nitrogen (<sup>15</sup>N) analyses of dried plant tissue. Stable isotope ratio of <sup>15</sup>N was quantified in the Stable Isotope Facility Laboratory (UC Davis, CA, USA)<sup>30</sup>.

We evaluated many limnological parameters at the end of the experiment. We measured turbidity and chromophoric dissolved organic matter (CDOM) (AcquaFluor fluorometer) as ecosystem processes related to organic matter processing; pH and dissolved O<sub>2</sub> (fluorometer) as ecosystem related to aquatic metabolism; ammonium as the nitrogen (N) regeneration through ammonification (macronutrient cycling); and in vivo chlorophyll-*a* (using AcquaFluor fluorometer) as a measurement of algal primary productivity.

### *Ecosystem multifunctionality*

First, we investigated the distribution of the ecosystem function (EF) variables and log-transformed them when necessary to fit the assumptions of the statistical test. Then, we carried out a principal component analysis (PCA) with the variables previously standardized and centered. We used the *prcomp* function from the *stats* package in R<sup>74</sup>. We used the first two axis score of the PCA as independent dimensions of ecosystem functioning. These two axes have got the most cumulative explanation of the data (first axis explained 50% and the second axis explained 18% of all data variation). Each axis was correlated with different groups of EFs variables through a correlation plot analysis using *corrplot* function<sup>75</sup>. We then selected variables with correlations significantly higher than 58% ( $r > 0.58$ ,  $p < 0.05$ ) to each of the two axes selected (Fig. S2). Overall, we obtained two ecosystem multifunctionality (EMF) components related to different and important ecosystem properties.

### *PC1 axis - Ecosystem productivity*

The first PC axis is positively correlated with ammonium ( $r=0.90$ ), chlorophyll *a* ( $r=0.94$ ), CDOM( $r=0.90$ ), turbidity( $r=0.89$ ) and  $^{15}\text{N}$  from bromeliad leaves ( $r=0.64$ ). Ammonium is a waste product of animal metabolism and an important component of nitrogen cycling in aquatic environments. Chlorophyll *a* (algae density) is a measurement of primary productivity; they use ammonium as a resource for growth and provide resource for the aquatic community. CDOM and turbidity are waste products from decomposition, mainly by detritivore activity and excretion, releasing nutrients into the water through the process. Finally,  $^{15}\text{N}$  from bromeliad leaves is a measurement of nitrogen flux from detritus to bromeliad tissue, hence a product of nitrogen cycling in bromeliads<sup>31</sup>. Because of the complexity and relationship between these EFs, we call this multifunctionality component as multifunctional ecosystem productivity (MEP).

#### *PC2 - Ecosystem metabolism*

The second PC axis is positively correlated with detritus biomass loss ( $r=0.70$ ), dissolved  $\text{O}_2$  ( $r=0.58$ ) and pH ( $r=0.63$ ). These EFs are part of the aquatic metabolism<sup>76-77</sup>, mainly from the decomposition process, which is the key process in bromeliad ecosystem. The aquatic detritus decomposition depends on detritus feature (e.g., biomass) and water components (e.g., oxygen and pH)<sup>76</sup>. Dissolved  $\text{O}_2$  is an essential element of the ecosystem respiration, influencing the flux of matter and energy in the system<sup>78</sup>. Thus, we call this multifunctionality compartment as ecosystem metabolism.

#### *Average multifunctionality index*

To investigate how the ecosystem responded to environmental changes and predator diversity in a single index, we used the standard average approach, a well-known method to evaluate ecosystem multifunctionality<sup>10,35</sup>. This index was calculated by the average of the Z-scores of each of the eight variables measured.

#### *Statistical analysis*

To evaluate the effects of environmental changes (warming and habitat size reduction) and predator diversity on individual ecosystem functions (EF) and ecosystem multifunctionality (EMF) we fitted piecewise structural equation models (piecewiseSEM) to each EF and EMF component<sup>79</sup>. Structural Equation model is a suitable tool to evaluate direct and indirect effects in ecological systems<sup>80</sup>. Specifically, we used piecewiseSEM to

investigate whether the environmental changes and predator diversity affect ecosystem functioning directly or indirectly by influencing the diversity and biomass/density of macroorganisms from different functional groups and bacteria. The models were created using linear models (LM). We evaluated two different models for each EF and EMF component: i) a community diversity model, to investigate how biotic and abiotic drivers affect ecosystem properties directly or were mediated by community diversity components (diversity mediated indirect effects), and ii) a community productivity model, to investigate how biotic and abiotic drivers affect ecosystem properties directly or indirectly by influencing community standing stock components (productivity mediated indirect effects), using consumers biomass (macroorganisms) or density (bacteria) as variables. We presented the standardized coefficient for each path from each component models and estimated the indirect effects through coefficient multiplication. The coefficients from direct and indirect effects are reported in table 1. The fit of the piecewise SEM was evaluated using Shipley's test of d-separation through Fisher's C statistic and AIC. The *piecewiseSEM*<sup>79</sup> is a SEM method that have some advantages when compared with the traditional variance covariance-based: (1) it is able to fit separate (generalized) linear models together into a single causal network, (2) it conducts a Shipley's test of d-separation to investigate missing paths from the model, (3) estimate Akaike information criterion (AIC) to compare nested models, (4) it is a better method for small sample size and 5) it is a well-established statistical method in the literature<sup>11,81,82</sup>. We carried out the analysis using the *piecewiseSEM* package<sup>79</sup>. All statistical analyses were conducted in R version 3.2.2<sup>74</sup>.

51. Rizzini, C.T. *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. (Âmbito Cultural, 1997).

52. Araújo, D.S.D. in *Coastal Plant Communities of Latin America* (eds. Seeliger, U.) 337-347 (New York, Academic Press, 1992).

53. Zaluar, H.L.T. & Scarano, F.R. in *Ecologia de Restingas e Lagoas costeiras* (eds. F.A. Esteves & L.D. Lacerda) 3-23 (NUPEM/UFRJ, 2000).

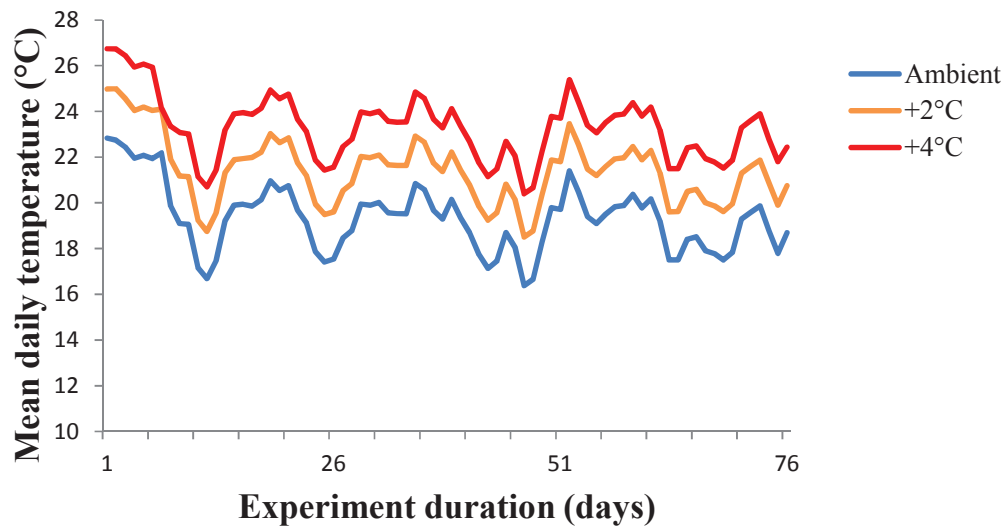
54. Rocha, C.F.D.; Cogliatti-Carvalho, L.; Almeida, D.R. & Freitas, A.F.N. Bromeliads: Biodiversity amplifiers. *J. Bromeliad Soc.* **50**, 81–83 (2000).

55. Gonçalves-Souza T., Brescovit A. D., Rossa-Feres D. C. & Romero G. Q. Bromeliad as biodiversity amplifiers and habitat segregation of spider communities in a Neotropical Rainforest. *J. Arachnol.* **38**, 270–279 (2010).
56. Cogliatti-Carvalho, L. et al. Volume de água armazenado no tanque de bromélias, em restingas da costa brasileira. *Acta Bot. Bras.* **24**, (2010).
57. Picado, C. Les Bromeliacees epiphytes considerees comme milieu biologique. *Bull. Sci. France et Belgique* **47**, 216-360 (1913).
58. Richardson, B.A. The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. *Biotropica*, **31**, 321-336 (1999).
59. Starzomski, B. M., Suen, D. & Srivastava, D. S. Predation and facilitation determine chironomid emergence in a bromeliad-insect food web. *Ecol. Entomol.* **35**, 53-60 (2010).
60. Corbet, P.S. *Dragonflies, behavior and ecology of Odonata*. (Cornell University Press, 1999).
61. Muzón, J., Munõz S.W., Campos, R. Description of the bromeliad-dwelling final instar larva of *Leptagrion andromache* Hagen in Selys (Zygoptera: Coenagrionidae). *Zootaxa* **2089**, 65–68 (2009).
62. Costa, J.M., Oldrini, B.B. & Anjos-Santos, D. Eight new *Leptagrion* larvae from Brazil (Zygoptera: Coenagrionidae) *Odonatologica* **38**, 93-111 (2009).
63. Kitching, R. L. *Food webs and container habitats: the natural history and ecology of phytotelmata*. (Cambridge University Press, 2000).
64. Zillikens, A., Gorayeb, I. D. S., Steiner, J. & Marcondes, C. B. Aquatic larvae and pupae of *Fidena (Laphriomyia) rufopilosa* (Ricardo)(Diptera: Tabanidae) developing in bromeliad phytotelmata in the Atlantic forest of southern Brazil. *J. Kans. Entomol. Soc.* **78**, 381-386 (2005).
65. Jackman, R., Nowicki, S., Aneshansley, D. J. & Eisner, T. Predatory capture of toads by fly larvae. *Science* **222**, 515-516 (1983).
66. Nowicki, S. & Eisner, T. Predatory behavior of bombardier beetles by a tabanid fly larva. *Psyche* **90**, 119-122 (1990).
67. Jost, L. Entropy and diversity. *Oikos* **113**, 363-375 (2006).
68. Muyzer, G., De Waal, E. C., & Uitterlinden, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase

- chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 695-700 (1993).
69. Thompson, C. L. in *Environmental microbiology: methods and protocols* (eds Paulsen, I.T. & Holmes, A.J.) 45-55 (Humana Press, 2014).
  70. Ott, S. J., Musfeldt, M., Ullmann, U., Hampe, J. & Schreiber, S. Quantification of intestinal bacterial populations by real-time PCR with a universal primer set and minor groove binder probes: a global approach to the enteric flora. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 2566-2572 (2004).
  71. Taketani, R. G., Dos Santos, H. F., van Elsas, J. D. & Rosado, A. S. Characterisation of the effect of a simulated hydrocarbon spill on diazotrophs in mangrove sediment mesocosm. *Antonie van Leeuwenhoek* **96**, 343-354 (2009).
  72. Benzing, D. H. *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. (Cambridge University Press, 2000).
  73. Romero, G. Q., Mazzafera, P., Vasconcellos-Neto, J. & Trivelin, P. C. Bromeliad-living spiders improve host plant nutrition and growth. *Ecology* **87**, 803-808 (2006).
  74. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.Rproject.org/> (2013).
  75. Wei, T. *corrplot: Visualization of a correlation matrix*. R package version 0.73 (2013).
  76. Lampert, W. & Sommer, U. *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. (Oxford university press, 2007).
  77. Staehr, P. A., et al. The metabolism of aquatic ecosystems: history, applications, and future challenges. *Aquatic Sciences* **74**, 15-29 (2012).
  78. Silva-Junior, E. F., Moulton, T. P., Boëchat, I. G. & Gücker, B. Leaf decomposition and ecosystem metabolism as functional indicators of land use impacts on tropical streams. *Ecological Indicators* **36**, 195-204 (2014).
  79. Lefcheck, J. S. piecewiseSEM: Piecewise structural equation modelling in r for ecology, evolution, and systematics. *Methods Ecol. Evol.* **7**, 573-579 (2016).
  80. Grace, J. B., Anderson, T. M., Olff, H. & Scheiner, S. M. On the specification of structural equation models for ecological systems. *Ecol. Monograph*. **80**, 67-87 (2010).

81. Duffy, J. E., et al. Biodiversity mediates top–down control in eelgrass ecosystems: a global comparative-experimental approach. *Ecol. Lett.* **18**, 696-705 (2015).
82. Lefcheck, J. S. & Duffy, J. E. Multitrophic functional diversity predicts ecosystem functioning in experimental assemblages of estuarine consumers. *Ecology* **96**, 2973-2983 (2015).

## Supplemental Material



Figure

S2. Temperature variation (mean per day) during the study for each warmer scenario.

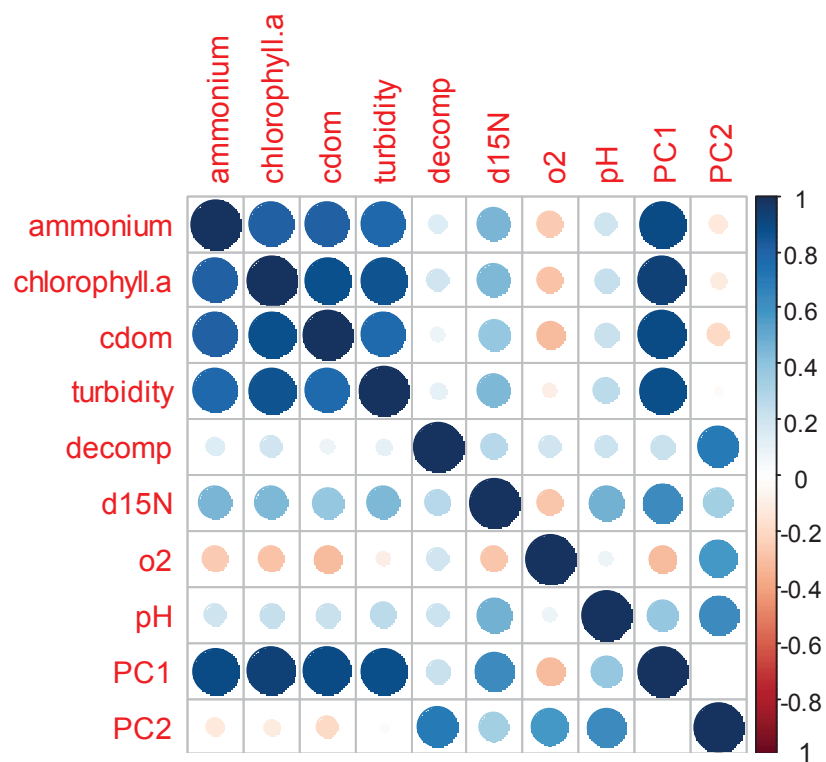
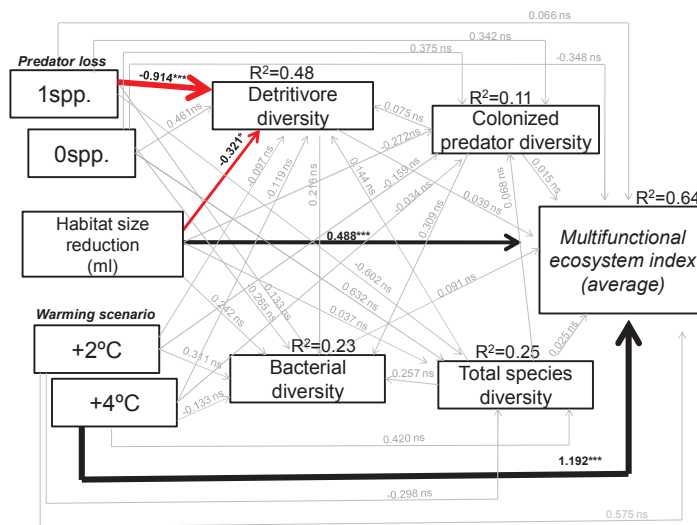


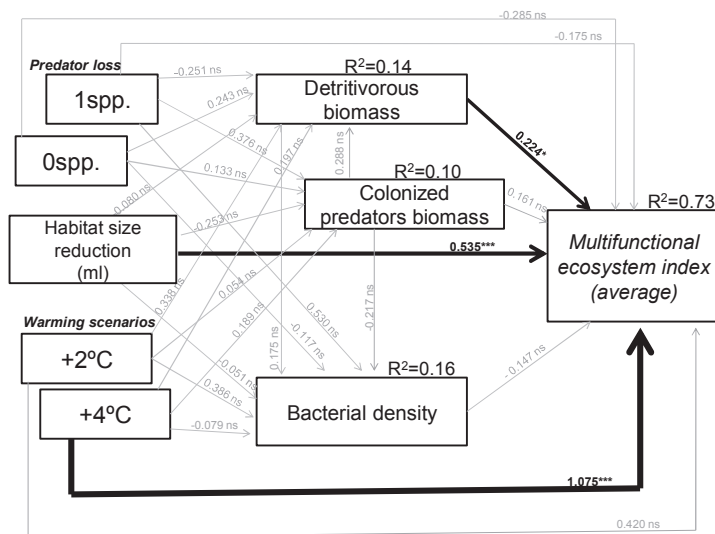
Figure S3. Correlation between each ecosystem function and the first two PC axis of a Principal Component Analysis (PCA). These axes have got the most cumulative explanation of the data, explained 68% of data variation. More details in Methods.



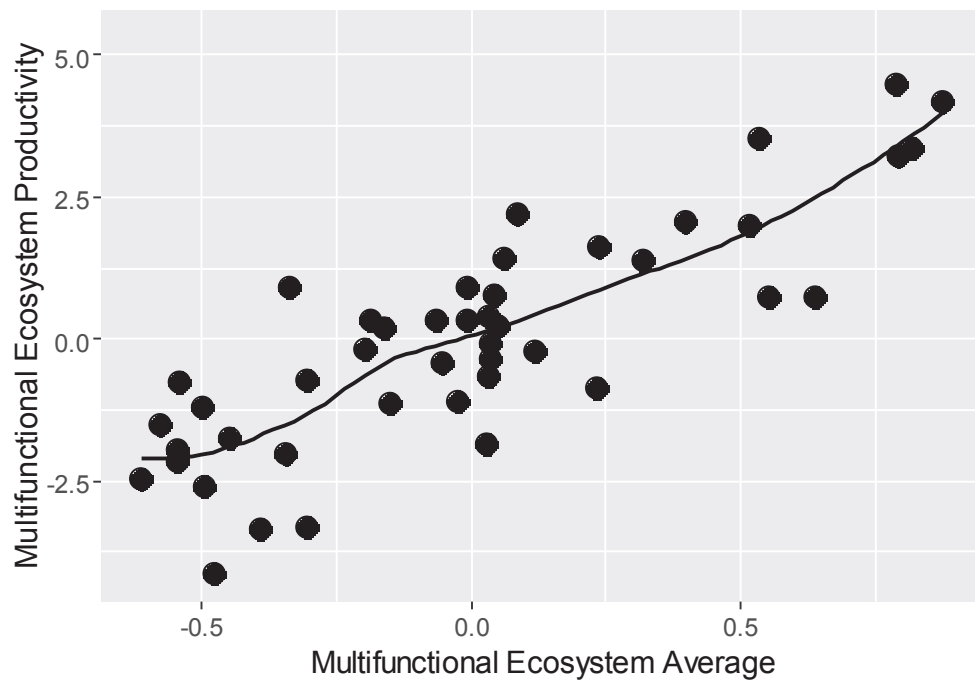
A



B

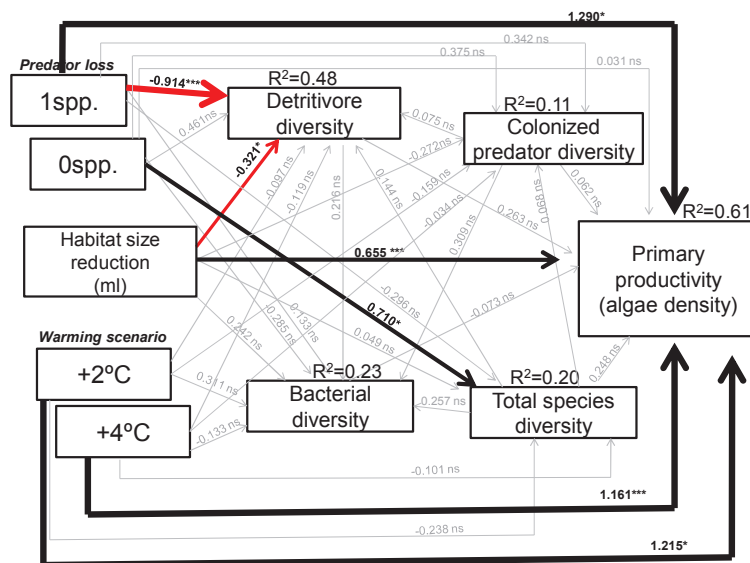


**Figure S3 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on standard average ecosystem multifunctionality index. a, Community diversity model (Fisher's C=7.18; P=0.305; AIC=113.18; AICc=-522.82); b, Community productivity model (Fisher's C= 1.19; P= 0.978; AIC = 77.19; AICc = 571.19). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4 spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.**

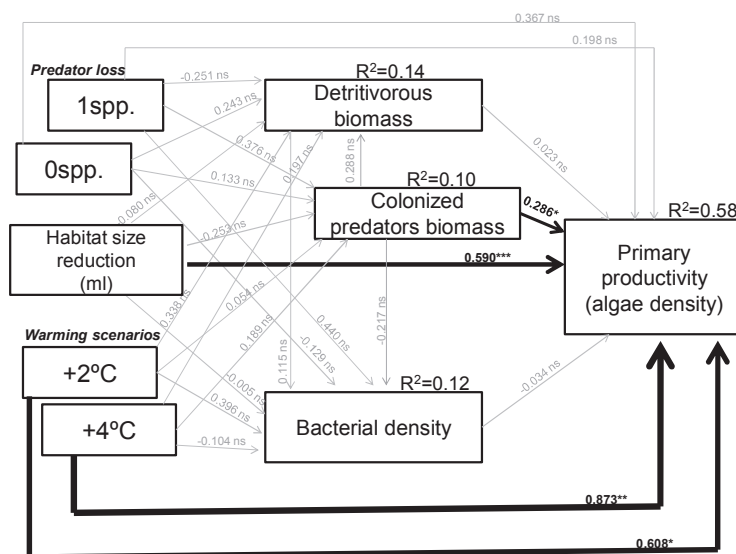


**Figure S4 | Relationship between the most explained axis from the principal component analysis - MEP (multifunctional ecosystem productivity obtained by the multivariate method – PCA axis) and standard average multifunctionality index (average of the ecosystem functions previously standardize using Z-score). Shadow areas show 95% confidence interval of the fit.**

A

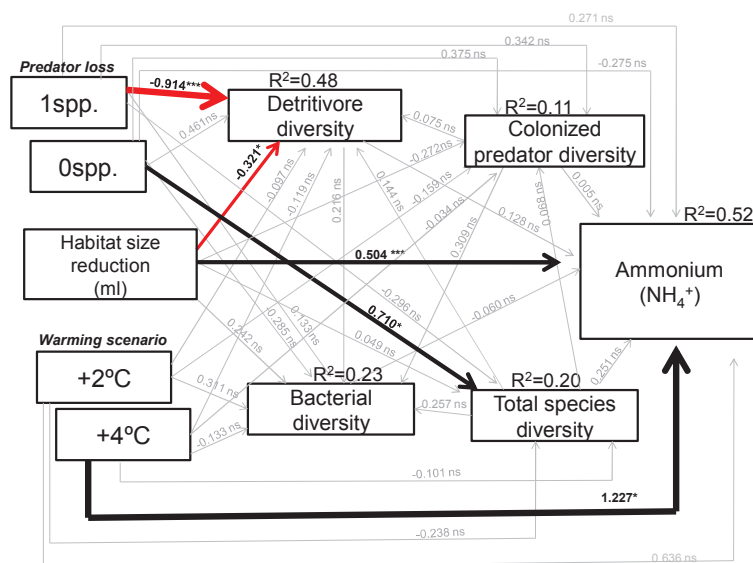


B

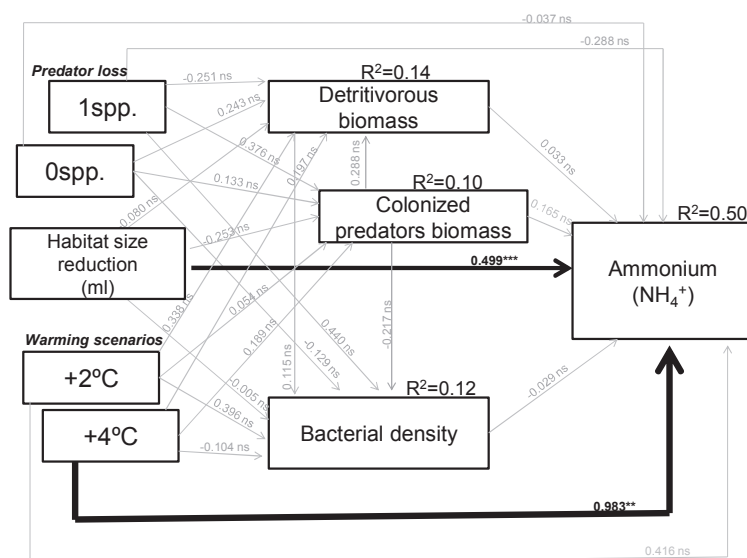


**Figure S5 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on algal density (primary production).** **a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=3.22$ ;  $P=0.199$ ;  $AIC=69.22$ ;  $AICc=273.22$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

A

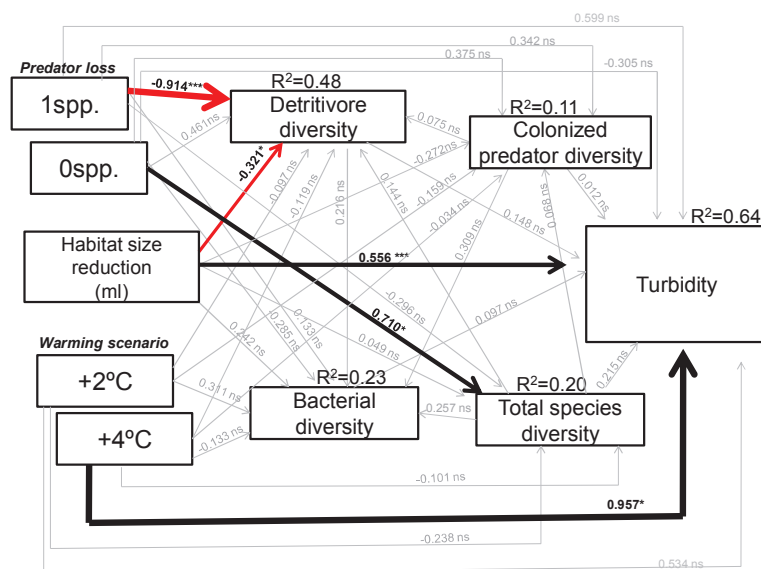


B

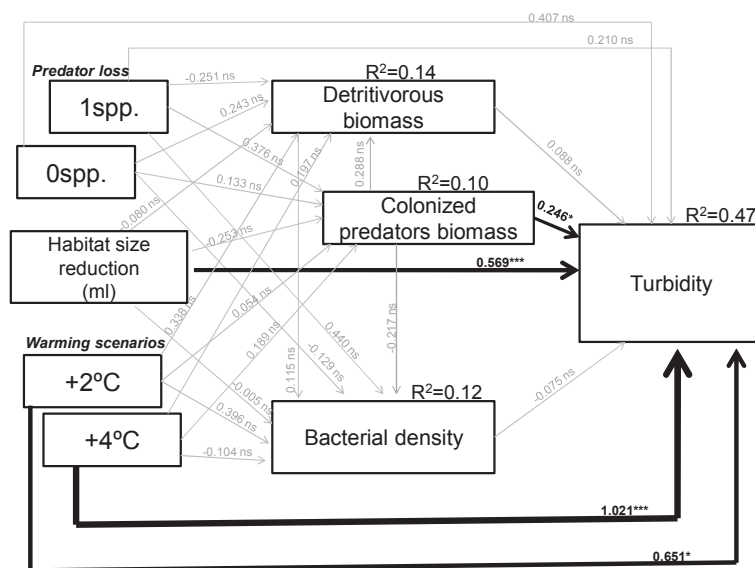


**Figure S6 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on ammonium concentration.** **a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=3.22$ ;  $P=0.199$ ;  $AIC=69.22$ ;  $AICc=273.22$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows. R<sup>2</sup>s for component models are given on the boxes of response variables.

A

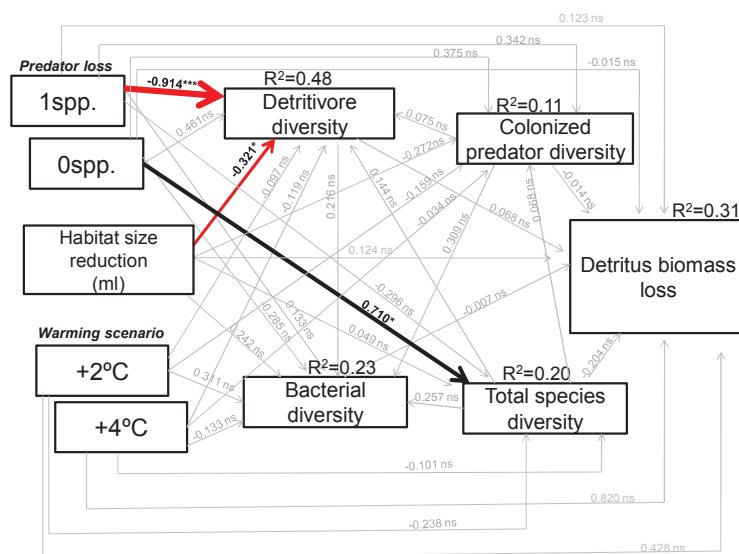


B

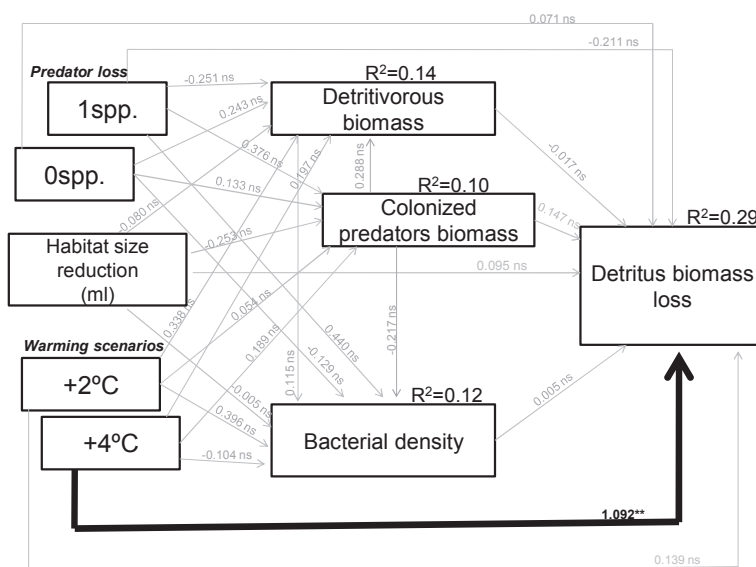


**Figure S7 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on turbidity. a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=3.22$ ;  $P=0.199$ ;  $AIC=69.22$ ;  $AICc=273.22$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4 spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

A

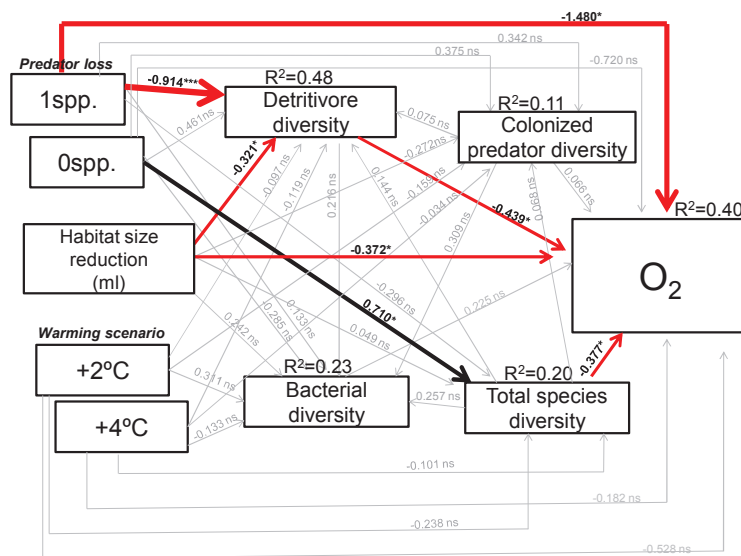


B

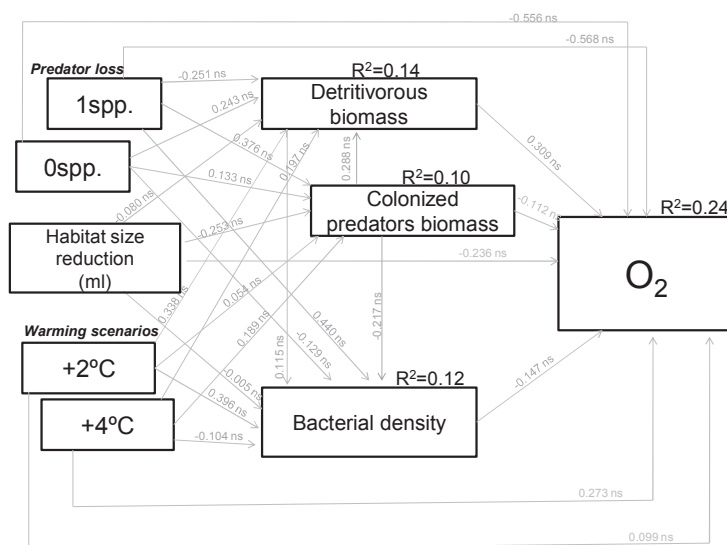


**Figure S8 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on detritus biomass loss.** **a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=3.22$ ;  $P=0.199$ ;  $AIC=69.22$ ;  $AICc=273.22$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m), solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are semi-transparent grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

A

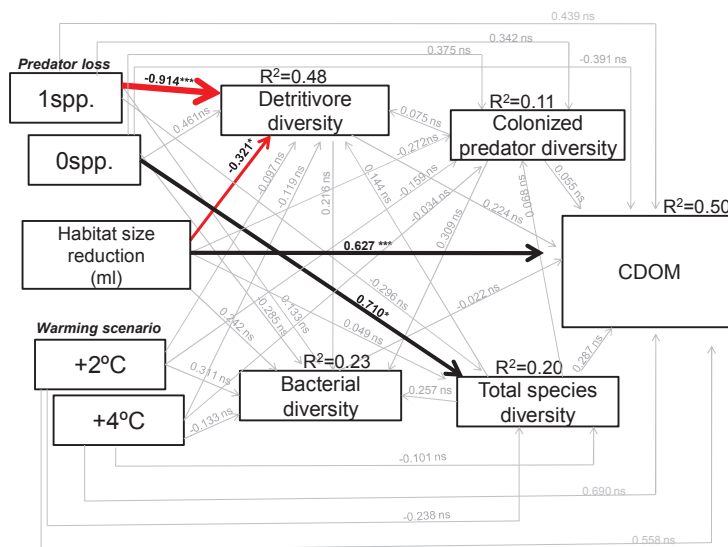


B

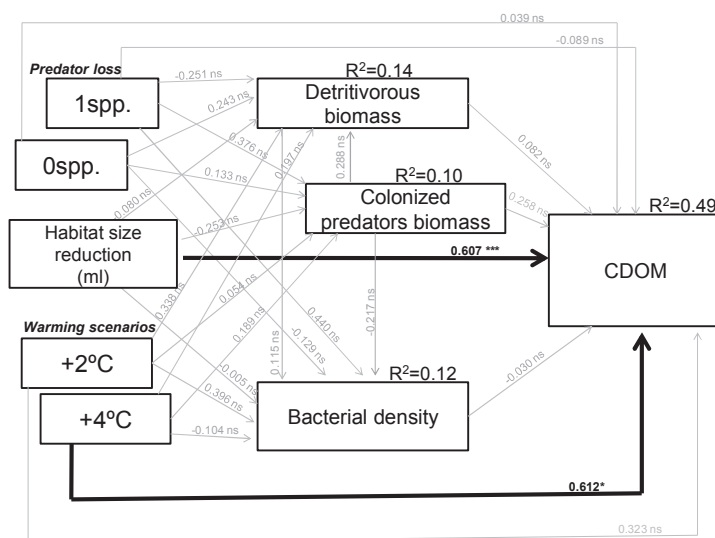


**Figure S9 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on aquatic dissolved oxygen. a,** Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b,** Community productivity model (Fisher's  $C=4.33$ ;  $P=0.826$ ;  $AIC=78.33$ ;  $AICc=480.04$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

A



B

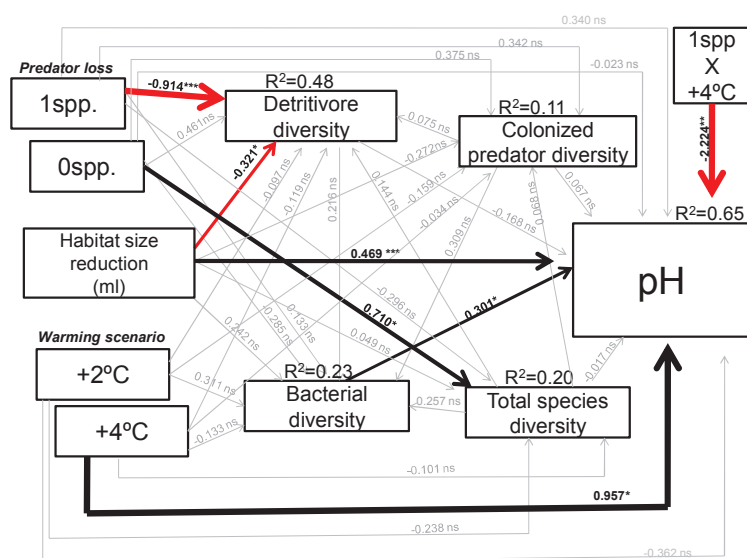


**Figure S10 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on chromophoric dissolved organic matter (CDOM).** **a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=3.22$ ;  $P=0.199$ ;  $AIC=69.22$ ;  $AICc=273.22$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

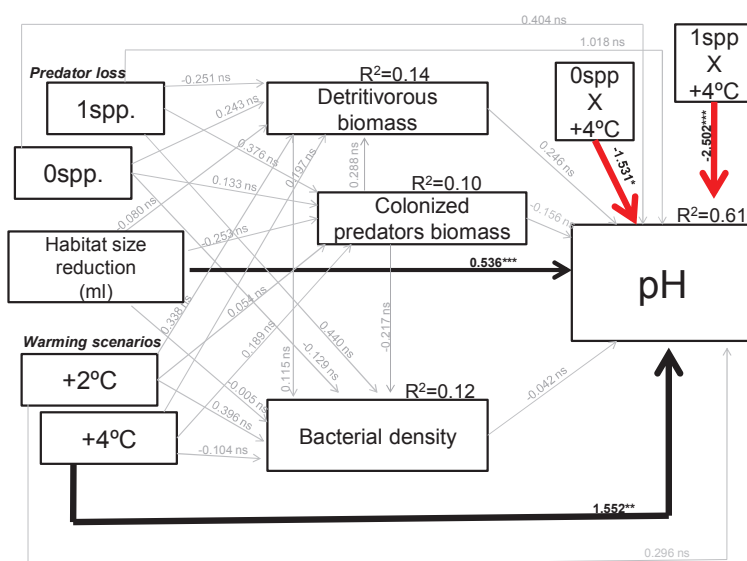


A

A



B



**Figure S12 | Structural equation models of warming, predator diversity, and habitat size effects on aquatic pH.** **a**, Community diversity model (Fisher's  $C=8.57$ ;  $P=0.38$ ;  $AIC=106.57$ ;  $AICc=-873.43$ ); **b**, Community productivity model (Fisher's  $C=4.33$ ;  $P=0.826$ ;  $AIC=78.33$ ;  $AICc=480.04$ ). Solid red arrows represent significant negative paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m) and solid black arrows represent significant positive paths ( $P \leq 0.05$  piecewise s.e.m). Arrows for non-significant paths ( $P \geq 0.05$ ) are grey. The thickness of the significant paths represents the magnitude of the standardized regression coefficient or effect sizes (which are relative to the higher predator diversity [4spp], or reference temperature treatment levels), given on the arrows.  $R^2$ s for component models are given on the boxes of response variables.

## Artigo 2

### **Mudanças ambientais e na diversidade de predadores determinam a alfa e beta diversidade em macro e micro-organismos**

Pablo Augusto P. Antiqueira<sup>1</sup>, Owen L. Petchey<sup>2</sup>, Valéria Maia de Oliveira<sup>3</sup>, Gustavo Quevedo Romero<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biologia (IB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

<sup>2</sup>Institute for Evolutionary Biology and Environmental Studies, University of Zurich, Zurich, Switzerland

<sup>3</sup>Research Center for Chemistry, Biology and Agriculture (CPQBA), Campinas University, Campinas, SP, Brazil

<sup>4</sup>Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia (IB), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

*Artigo escrito segundo as normas da revista Global Change Biology*

## Resumo

Muitas são as evidências do declínio na biodiversidade global devido às causas antropogênicas, como mudanças climáticas, perda de habitat e simplificação trófica das comunidades biológicas. Apesar de a maioria dos estudos abordarem apenas causas isoladas e dentro de um único grupo de organismos, grupos biológicos de diferentes níveis tróficos podem responder de maneira particular aos diferentes impactos ambientais. Nós utilizamos microcosmos naturais (bromélias-tanque) como sistema modelo para investigar os efeitos individuais e interativos do aquecimento, mudanças na diversidade de predadores de topo e do tamanho do habitat nos padrões de diversidade de diferentes grupos biológicos distantes filogeneticamente e com gradiente de tamanho corporal - macrofauna, microfauna e bactérias. A diversidade local (i.e., riqueza dentro de cada bromélia) foi a que melhor explicou a diversidade gama das comunidades de todos os grupos biológicos. Em geral, a dissimilaridade entre as comunidades ocorreu devido à substituição de espécies (*species turnover*) e não à perda de espécies (*nestedness*). A microfauna foi o grupo mais sensível às variações tróficas (diversidade de predadores) e ambientais (aquecimento e tamanho do habitat); o aquecimento e a diversidade de predadores afetaram as diversidades alfa e beta da microfauna, enquanto o tamanho do habitat afetou apenas a diversidade beta. A macrofauna foi sensível às mudanças na diversidade de predadores de topo e ao tamanho do habitat, tanto para a diversidade alfa quanto para a diversidade beta. Em contraste, a comunidade bacteriana não foi influenciada pelos tratamentos. A comunidade de cada grupo biológico foi estruturada de maneira particular, não sendo concordantes entre si diante das mudanças ambientais e tróficas. Nossos resultados demonstram que diferentes impactos antropogênicos afetam de maneira distinta os componentes da diversidade de macro e micro-organismos. Enfatizamos, assim, a necessidade de uma abordagem multitrófica e multiespecífica na avaliação dos efeitos dos diferentes impactos antropogênicos na biodiversidade.

**Palavras-chave:** mudanças climáticas, diversidade de predadores, tamanho do habitat, biodiversidade, beta diversidade, bromélia-tanque.

## Introdução

Comunidades ecológicas são estruturadas por fatores bióticos, tais como, eventos de predação, competição e produtividade primária, e por fatores abióticos, como temperatura, precipitação e tamanho do habitat. Mudanças em ao menos um desses elementos do sistema podem causar efeitos substanciais na diversidade de espécies de diferentes níveis tróficos

(Butchart *et al.*, 2010; Walther *et al.*, 2010; Woodward *et al.*, 2010; Zarnetske *et al.* 2012). As alterações na diversidade regional de espécies (diversidade gama) podem ser resultantes das alterações nas assembleias de espécies locais (diversidade alfa), bem como nas diferenças entre cada local, ou seja, na dissimilaridade entre as comunidades (diversidade beta) (Yang *et al.*, 2011; Kordas *et al.*, 2015; Socolar *et al.*, 2016). A diversidade beta pode ser consequência de dois processos, i) a dissimilaridade por perda de espécies (*species nestedness* ou *richness difference*) ou ii) por substituição de espécies (*turnover*) (Baselga, 2010; Legendre, 2014). Cada processo pode refletir características intrínsecas da montagem da comunidade. Por exemplo, a perda de espécies pode ocorrer através da extinção diferencial de espécies locais causada por algum distúrbio ambiental, fazendo com que a comunidade em questão seja apenas um subconjunto das espécies de outros locais mais ricos (e.g., mais estáveis), gerando assim um padrão aninhado na comunidade (*nestedness*). Já a substituição de espécies pode ocorrer devido à capacidade de dispersão de espécies ou do grau de especificidade das mesmas em relação às diferentes condições bióticas ou abióticas (Baselga, 2010). Dessa maneira, espécies ou grupos de espécies que possuem diferentes atributos de dispersão ou resistência a distúrbios ambientais podem ser estruturadas de maneira distinta (Farjalla *et al.*, 2012), tanto em relação à diversidade local quanto à substituição ou perda de espécies (Baselga, 2010; Legendre, 2014).

A capacidade de dispersão e adaptação dos organismos são atributos específicos importantes que permitem a sobrevivência frente às mudanças ambientais (Berg *et al.*, 2010). Micro-organismos são transportados passivamente pelo vento ou água corrente e, desse modo, possuem maior capacidade de dispersão que macro-organismos (Finlay, 2002; Shurin *et al.*, 2009). Além disso, apesar de serem governados principalmente por processos estocásticos na montagem da comunidade (Farjalla *et al.*, 2012), micro-organismos são resistentes aos novos locais colonizados e com boa capacidade de adaptação. Assim, podem ter maior resistência ambiental do que macro-organismos, além de ampla distribuição (Finlay 2002, mas veja Declerck *et al.* 2013) e, portanto, baixa substituição de espécies (*turnover*) ao longo de gradientes espaciais (Hillebrand *et al.*, 2001; Shurin *et al.*, 2009). Essa influência do tamanho corporal dos grupos biológicos na montagem das comunidades pode gerar um gradiente de determinismo ecológico, com bactérias sendo governadas por processos estocásticos, a macrofauna por processos determinísticos (e.g., insetos), e a microfauna (e.g., protistas), de tamanho intermediário, com influência de ambos os processos (Farjalla *et al.*, 2012). A

diferença dos mecanismos de estruturação da comunidade em cada grupo biológico pode influenciar também nas respostas dos organismos às mudanças ambientais.

Um dos problemas ambientais mais discutidos atualmente é a mudança no clima (IPCC 2014). Mudanças climáticas podem alterar drasticamente a biodiversidade, tanto de maneira direta, afetando características fisiológicas individuais, quanto indiretamente através da influência nas interações de espécies (Petchey *et al.*, 1999; Urban, 2015; Woodward *et al.*, 2010; Shurin *et al.*, 2012; Perkins *et al.*, 2015; Gruner *et al.*, 2016; Marino *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 2016). Algumas espécies podem ser mais sensíveis ao aquecimento que outras, assim, o aumento de temperatura pode aumentar a beta diversidade (Socolar *et al.*, 2016) e decrescer ou não a riqueza de espécies dependendo do ecossistema em questão (e.g., água doce, marinho ou terrestre), do grupo de organismo e da composição local de espécies (Gruner *et al.*, 2016). Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito das mudanças climáticas na diversidade local (riqueza) e na beta diversidade de grupos biológicos distantes filogeneticamente e de diferentes tamanhos corporais (bactérias, microfauna e macrofauna). Adicionalmente, a perda da diversidade em decorrência das mudanças ambientais e no clima pode ser horizontal, com a substituição ou extinção de espécies pertencentes a um mesmo nível trófico, ou vertical, com determinados níveis tróficos sendo mais propensos à extinção que outros (e.g., predadores) (Petchey *et al.*, 1999, 2004; Gruner *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 2016). Essa maior sensibilidade dos organismos de níveis tróficos superiores pode ser atribuída à sua menor densidade e diversidade (Bruno & Cardinale, 2008; Turney & Buddle, 2016), bem como ao tamanho corporal maior (Brose *et al.*, 2012). Organismos com maior tamanho corporal são mais sensíveis ao aquecimento, às mudanças ambientais e de habitat (Brose *et al.*, 2012; Petermann *et al.*, 2015; Romero *et al.*, 2016), e, portanto, mais propensos a extinção em cenários de mudanças climáticas do que organismos menores (Petchey *et al.*, 1999; Brose *et al.*, 2012). Assim, a resposta dos diferentes grupos de consumidores aos estressores ambientais torna-se ainda mais complexa e de difícil predição.

A sensibilidade dos predadores às mudanças ambientais atuais tem causado uma ameaça alarmante a este grupo trófico (Estes *et al.*, 2011). A diminuição ou mesmo a perda das espécies de predadores de topo podem alterar a estrutura da comunidade local (Bruno & Cardinale, 2008; Hammill *et al.*, 2015) através de efeitos em cascata (top-down) (Otto *et al.*, 2008; Bruno & Cardinale, 2008; Estes *et al.*, 2011), com consequente impacto no funcionamento dos ecossistemas (Petchey *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 2008; Schmitz *et al.*, 2010; Atwood *et al.*, 2013). Os efeitos de predação, através do consumo ou do

comportamento, podem afetar a diversidade de diferentes grupos tróficos e taxonômicos, mesmo distantes filogeneticamente, como macroinvertebrados e bactérias (Hammill *et al.*, 2015; Marino *et al.*, 2016). Entretanto, prever a direção e a magnitude dos efeitos da diversidade de predadores de topo na estruturação das comunidades torna-se difícil devido à amplitude de respostas (Bruno & O'Connor, 2005; Bruno & Cardinale, 2008). Por exemplo, a maior riqueza de predadores pode aumentar a taxa de captura de presas devido à maior complementaridade na partição de recursos, com diferentes predadores consumindo maior variabilidade de presas (Griffin *et al.*, 2008), ou através do efeito de seleção (alta diversidade de predadores aumenta a chance de ocorrência de espécies mais eficientes na captura de presas) (Denoth *et al.*, 2002; Bruno & O'Connor, 2005; Straub & Snyder, 2006). Por outro lado, a maior diversidade de predadores pode também decrescer o consumo de presas e os efeitos em cascata devido às interações intra-guilda, com predadores consumindo ou afugentando organismos do mesmo nível trófico além dos níveis adjacentes, amortecendo o impacto aos níveis tróficos inferiores (Finke & Denno, 2004, 2005; Schmitz, 2007). Adicionalmente, os impactos da perda de predadores podem ser influenciados por outras alterações ambientais, como mudanças climáticas e de habitat (Greig *et al.*, 2012; Kratina *et al.*, 2012; Petermann *et al.*, 2015; Marino *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 2016).

Uma das principais causas da perda da biodiversidade global é a degradação de habitats (Sala *et al.* 2000; Haddad *et al.*, 2015, Gossner *et al.*, 2016). A relação entre o tamanho do habitat e diversidade de espécies que ali vivem é bem estabelecida (MacArthur & Wilson, 1967). Características intrínsecas das espécies e interações interespecíficas são determinantes para os padrões de colonização e extinção de diferentes grupos biológicos em habitats de diferentes tamanhos (Bie *et al.*, 2012; Logue *et al.*, 2011; Petermann *et al.*, 2015), influenciando assim a dinâmica da metacomunidade (Leibold *et al.*, 2004). Entretanto, o tamanho do habitat pode afetar grupos particulares de organismos e interagir com outras variáveis ambientais e biológicas. Petermann *et al.* (2015), utilizando bromélias-tanque como sistema modelo, verificaram que o tamanho do habitat foi determinante na estruturação da comunidade, uma vez que habitats maiores sustentavam maior biomassa de predadores. Romero *et al.* (2016) verificaram que a relação positiva entre predadores e tamanho do habitat é contingente, com forte influência da temperatura local. Adicionalmente, Mantyka-Pringle *et al.* (2012), em um estudo meta-analítico, reportaram que a perda de habitat pode causar impactos ainda mais intensos na biodiversidade quando em conjunto com mudanças climáticas (e.g., aquecimento), sendo que este efeito pode variar de acordo com o grupo

biológico. Dessa maneira, os efeitos dos diferentes impactos antrópicos, incluindo perda da biodiversidade, tamanho de habitat e mudanças climáticas na estruturação de comunidades é demasiado complexo, com pouco suporte empírico. Pouco se sabe sobre o impacto da interação entre alterações na diversidade de predadores, o aumento da temperatura e alterações no tamanho de habitat, especialmente nos padrões de diversidade de grupos biológicos distantes filogeneticamente e de diferentes níveis tróficos. Muitas alterações ambientais e bióticas podem ocorrer de maneira simultânea na natureza (Sala *et al.*, 2000), o que faz a maioria das predições atuais subestimarem os seus efeitos na biodiversidade. Isso porque a maioria dos estudos consideraram apenas os efeitos individuais do clima, perda de habitat e perda de predadores, ou mesmo a relação entre apenas dois destes fatores (Mantyka-Pringle *et al.*, 2012; Binzer *et al.*, 2016; Sentis *et al.*, 2016). Há falta de dados empíricos dos efeitos desses fatores em conjunto na biodiversidade, apesar de serem os principais impactantes ecológicos em ecossistemas de água doce (Carpenter *et al.*, 1992; Meyer *et al.*, 1999; Allan *et al.*, 2005).

Neste estudo, nós utilizamos bromélias-tanque como sistema modelo para investigar os efeitos individuais e interativos do aquecimento, mudanças na diversidade de predadores de topo e do tamanho do habitat, nos padrões de diversidade de grupos biológicos de diferentes níveis tróficos e com gradiente de tamanho corporal. Nosso objetivo foi entender: (i) os padrões de diversidade das comunidades de micro e macro-organismos aquáticos e qual a contribuição da diversidade local (diversidade alfa) e a dissimilaridade de espécies (diversidade beta) na diversidade regional (diversidade gama) de bactérias, microfauna e macrofauna; (ii) como a variação dos diferentes impactos ambientais e biológicos estudados (*i.e.*, aquecimento, mudança na diversidade de predadores e tamanho do habitat) afetam os padrões de diversidade de cada grupo biológico e, (iii) se os grupos são concordantes em relação à estruturação da comunidade diante dos estressores experimentais. Nós esperamos alta contribuição da diversidade local na diversidade regional (diversidade gama). A contribuição da diversidade beta na diversidade gama pode variar de acordo com o grupo biológico, devido à capacidade de dispersão de cada grupo. A resposta da comunidade ao aquecimento pode variar de acordo com o grupo biológico e o nível trófico. A macrofauna pode ser mais sensível ao aquecimento, devido ao maior tamanho corporal. Por outro lado, bactérias possuem alta capacidade de adaptação, podendo ser mais resistentes ou resilientes ao aquecimento. O aquecimento pode diminuir a riqueza de espécies da microfauna de maneira direta, por atingir seus limites térmicos (Parmesan, 2006; Lavergne *et al.*, 2010), ou



indiretamente através do aumento das taxas de consumo dos seus predadores (Zarnetske *et al.*, 2012; Sentis *et al.*, 2014). A maior diversidade de predadores pode decrescer a riqueza de espécies do nível trófico adjacente por partição de recursos (complementaridade) ou efeito de seleção, ou mesmo aumentar a riqueza de espécies se houver interação intra-guilda. Como muitas espécies da macrofauna são predadoras da microfauna, é possível que a maior diversidade de predadores de topo afete positivamente a microfauna, mediado pelo impacto causado na macrofauna. Adicionalmente, o aquecimento pode influenciar o impacto da diversidade de predadores (Sentis *et al.*, 2016) de maneira positiva (Zarnetske *et al.*, 2012) ou negativa (Petchey *et al.*, 1999; Brose *et al.*, 2012). Como cada grupo biológico estudado possui características intrínsecas quanto à dispersão, adaptabilidade e relações tróficas, nós esperamos que as comunidades de bactérias, microfauna e macrofauna não sejam concordantes quanto à organização da comunidade, sendo estruturadas de maneira distinta em resposta às diferentes alterações ambientais e tróficas.

## **Material e métodos**

### *Sistema de estudo*

O estudo foi desenvolvido no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, litoral norte do estado de São Paulo, Brasil, de abril a julho de 2014. O local possui uma área de aproximadamente 47.500 hectares, com vegetação característica de Mata Atlântica distribuída em ambientes de mata de encosta, mangue, mata de restinga e ambiente marinho-costeiro. O clima local é caracterizado como tropical úmido (AF de Köppen), sem estação seca definida (Sanchez *et al.*, 1999), com uma precipitação média anual superior a 2.200 mm. O experimento foi conduzido especificamente em área de restinga. Nestas formações, as bromélias possuem um papel importante como facilitadoras para o estabelecimento de outras espécies vegetais (Zaluar & Scarano 2000) e como amplificadoras da diversidade biológica, por promoverem recursos a diferentes grupos de animais (Rocha *et al.*, 2000; Gonçalves-Souza *et al.*, 2010). Bromélias-tanque são plantas neotropicais que acumulam água de chuva entre os tanques formados pelas axilas foliares (Benzing, 2000). Este micro-ecossistema aquático serve como habitat para uma grande variedade de macro e micro-organismos, desde algas, bactérias e zooplânctons, à macroinvertebrados detritívoros e predadores (Richardson *et al.*, 2000; Srivastava & Bell, 2009). Cada bromélia pode ser considerada uma comunidade, conectada às bromélias adjacentes pela colonização dos

organismos, dispersados de maneira passiva (e.g., bactérias e microfauna) ou ativa (e.g., macroinvertebrados de ciclo de vida complexa, como insetos) (Srivastava *et al.*, 2004, Richardson *et al.*, 2000). Por serem normalmente distribuídas em manchas na natureza, bromélias formam metacomunidades com uma grande variedades de organismos de diferentes níveis tróficos. Assim, bromélias-tanque constituem excelentes sistemas modelos em estudos ecológicos (Srivastava *et al.*, 2004), tanto no nível da comunidade quanto do ecossistema. A planta utilizada no experimento foi *Neoregelia johannis* (Carrière) L. B. Smith. (Bromeliaceae), uma espécie comum de mata atlântica da costa sudeste do Brasil. Esta espécie é composta por bromélias de grande porte com folhas que podem atingir 1m de comprimento em áreas sombreadas. O fitotelmata formado por suas folhas pode acumular mais de dois litros e meio de água da chuva (Cogliatti-Carvalho *et al.*, 2010; P.A.P. Antiqueira *obs. pessoais*), sendo habitado por uma rica diversidade de espécies de macroinvertebrados e micro-organismos.

Entre os principais predadores aquáticos desse sistema estão Zygoptera (damselfly) e Tabanidae (horse fly). Larvas de zigópteros são predadores vorazes nos ecossistemas bromelícolas, caçando suas presas através de estratégia senta-e-espera. Podem afetar toda a comunidade de macroinvertebrados detritívoros aquáticos (de Omena, 2014), além de decrescer a taxa de emergência de algumas espécies de insetos (Starzomski *et al.*, 2010). Adicionalmente, zigópteros podem influenciar ainda processos ecossistêmicos importantes em bromélias, como decomposição e a ciclagem de nutrientes (Ngai & Srivastava, 2006). Dentre os zigópteros, o gênero *Leptagrion* é especializado em viver em fitotelmata de bromélias (Corbet, 1999). Na região sudeste do Brasil, duas espécies comuns deste gênero são *L. andromache* (Muzón *et al.*, 2009) e *L. elongatum* (Costa *et al.*, 2009), sendo o primeiro o predador dominante do sistema (de Omena, 2014; Antiqueira *observações pessoais*). Já espécies de tabanídeos que vivem em bromélias são muito pouco estudados em relação ao seu papel no ecossistema bromelícola (Zillikens *et al.*, 2005). Entretanto, sabe-se que tabanídeos são predadores vorazes em outros ecossistemas aquáticos tanto de invertebrados quanto de pequenos vertebrados (Jackman *et al.*, 1983; Nowick & Eisner 1990), vivendo enterrados no substrato de lama do fundo aquático e capturando suas presas por emboscada (Jackman *et al.*, 1983). Dessa maneira, tabanídeos podem exercer forte efeito na comunidade bromelícola, sendo o seu estudo fundamental para melhor entender as relações tróficas destes organismos e seu papel no ecossistema.

### *Desenho experimental*

Nesse estudo investigamos como aquecimento, com previsões propostas para cenários mais otimistas (com redução das emissões anuais de CO<sub>2</sub>) e pessimistas (com aumento das emissões de CO<sub>2</sub>) (Marengo *et al.*, 2009; Marengo *et al.*, 2010; PBMC 2015; IPCC 2014), alterações na diversidade de predadores de topo e no tamanho do habitat afetam a estrutura das comunidades da macrofauna, microfauna e bactérias. Para simulação do aquecimento global usamos aquecedores pequenos de aquário de 1,0 W conectados a receptores e controladores de temperatura. A temperatura referência (*i.e.*, temperatura da água da bromélia controle) é transmitida ao primeiro controlador de temperatura, que transfere valor referência para um segundo controlador, que por sua vez, controla aquecedores acoplados que aumentam em 2°C a temperatura das bromélias (previsão de acordo com cenários mais otimistas de emissão de CO<sub>2</sub>). Adicionalmente, um terceiro controlador ligado ao segundo controlador aumentou a temperatura dos aquecedores em 2°C adicionais e, portanto, 4°C em relação à temperatura ambiente (previsão de acordo com cenários mais pessimistas de emissão de CO<sub>2</sub>). Desta forma, simulamos de forma simultânea o valor de delta de temperatura entre as plantas referência e as que receberam os tratamentos. Assim, nossa manipulação experimental simulou qualquer variação natural de temperatura ao longo do dia/noite em tempo real e, portanto, as condições reais diárias (Antiqueira, cap. 1, 2017). O aumento de temperatura utilizado foi realista, utilizando previsões tanto para cenários mais otimistas (+2°C) quanto os pessimistas (+4°C).

Para a montagem do experimento nós selecionamos bromélias de casa de vegetação (N=45), mas provenientes de sementes coletadas na região de estudo e, portanto, semelhantes geneticamente às bromélias nativas. Previamente ao experimento nós lavamos as bromélias, tratamos com hipoclorito de sódio a 5%, e, posteriormente, com antibiótico para eliminar macroinvertebrados e bactérias não naturais da área de estudo (T.N. Bernabé & G.Q. Romero, dados não publicados). Após isso, nós lavamos as plantas novamente, medimos e transportamos ao campo para a experimentação. Para estabelecer uma comunidade inicial base no início do experimento nós amostramos toda a fauna de macroinvertebrados de bromélias selvagens (n=15), e estimamos as médias de abundância das principais famílias e grupos funcionais. Nós agrupamos as plantas experimentais em blocos, organizados de acordo com a capacidade de retenção de água da bromélia (*i.e.*, volume), variando de 825ml a 2200ml. Assim, cada bloco consistiu de nove bromélias de tamanho similar, mas distinto de outro bloco, e organizados no sub-bosque da restinga fechada. Dessa maneira, investigamos

os possíveis efeitos da variação do tamanho do habitat (i.e., volume da bromélia, Srivastava *et. al.*, 2008), simulando a perda de área do habitat, na estrutura da macrofauna, microfauna e bactérias. Para controlar o volume de água das plantas e evitar exposição constante a chuvas, as bromélias foram protegidas com estruturas em formato de guarda-chuva com 1.80 m de diâmetro. Previamente ao início do experimento, nós preenchemos as plantas com água de chuva homogeneizada com água de bromélias selvagens filtrada, em uma proporção de 50% cada, introduzindo assim a microfauna e flora inicial nativa nas plantas experimentais. Cada uma das plantas recebeu três aquecedores espalhados entre os tanques. Em seguida, as plantas foram aleatoriamente designadas a receber os tratamentos experimentais, distribuídos em dois fatores: temperatura e diversidade de predadores. O fator temperatura foi composto por três níveis: i) planta controle, que recebeu os aquecedores desligados (para controlar o efeito da presença dos aquecedores nos demais tratamentos) e um sensor para captação da temperatura ambiente (referência), ii) aquecedores com sensores de temperatura ligados a controladores ajustados conforme previsão mais otimista (aumento em 2°C) e iii) com sensores de temperatura ligados a controladores ajustados conforme previsão mais pessimista (aumento em 4°C). O fator predação foi composto também por três níveis, combinados ortogonalmente com os tratamentos de variação de temperatura: i) ausência de predador; ii) baixa diversidade, composta por uma única espécie de predador, *L. andromache*, e iii) alta diversidade, composta por quatro espécies de predadores, *Leptagrion andromache*, *L. elongatum* (Zigoptera), *Stibasoma bicolor* (Tabanidae) e *Fidena rufopilosa* (Tabanidae). Dessa maneira, cada bloco foi composto de nove tratamentos aleatoriamente distribuídos (n=5). Para controlar o efeito de futuras colonizações de predadores, utilizamos predadores de últimos instares larvais, que possuem efeito muito mais intenso que organismos recém-eclodidos (de Omena, 2014). O desenho experimental foi substitutivo (Sih *et al.*, 1998) e cada predador foi repostado uma vez, 30 dias após o início do experimento, sendo que o tempo total de estudo foi de 75 dias (abril-julho de 2014). Foram feitas reposições semanais de água nas plantas de acordo com o nível nos tanques formados pelas axilas foliares, e diariamente nos tanques que receberam os aquecedores. Para isso foi utilizada apenas água de chuva filtrada.

#### *Amostragem da macrofauna, microfauna e bactérias*

Após 75 dias de decorrência do experimento nós coletamos a água da bromélia para estimar a diversidade de micro-organismos (bactérias) e microfauna. As amostras de bactérias foram congeladas e posteriormente levadas ao laboratório no Centro Pluridisciplinar

de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP) para análise de eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE). Para a extração do DNA total da comunidade microbiana, as amostras foram homogeneizadas e uma alíquota de 500 µL, incluindo água e detritos, foi utilizada para a extração de DNA. O DNA genômico foi extraído utilizando-se o kit de extração PowerSoil DNA Isolation Kit (Mobio), amplificados e sujeitos à eletroforese em gel com gradiente desnaturante no sistema Ingeny phor U-2 (Ingeny International BV®). Nós analisamos as imagens dos géis com os perfis de bandas das amostras com o software Bionumerics (version 6.6; Applied Maths, Kortrijk, Bélgica) após conversão e normalização dos perfis utilizando como padrão as bandas presentes em todas as amostras. Por fim, foi gerada uma matriz de presença e ausência das bandas para cada uma das amostras analisadas. Nós utilizamos essas matrizes para obtenção das unidades taxonômicas operacionais de bactérias (UTOs), as quais chamaremos daqui em diante de diversidade bacteriana. Apesar de a análise de DGGE mostrar apenas os grupos dominantes de bactérias (mais abundantes) (Muyzer *et al.* 1993), trata-se de uma ferramenta muito útil para avaliar de maneira rápida a comunidade de micro-organismos em diferentes ambientes (Thompson 2014).

Para a análise da microfauna, nós fixamos 2 mL de água da bromélia com lugol 5% para contagem e identificação de protozoários e metazoários microscópicos (chamado daqui em diante de microfauna). Essas amostras foram levadas ao laboratório de Protozooplâncton no Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPELIA) na Universidade Estadual de Maringá, Maringá, estado do Paraná, Brasil. O material foi corado com Rosa de Bengala, em solução aquosa, para evidenciar detalhes mais complexos dos organismos, como o núcleo por exemplo. Nós realizamos uma contagem de 400 µl de amostra, diluído até 1mL em água destilada, e observado em uma câmara de contagem quantitativa de Sedgewick-Rafter. A estimativa de abundância/ml foi feita por extrapolação.

Para a amostragem da macrofauna as bromélias foram dissecadas, lavadas e o conteúdo de cada fitotelmata foi totalmente removido e triado em bandeja branca para coleta dos organismos e da matéria orgânica, sendo o material fracionado em duas peneiras de dimensões diferentes (125 e 800 µm) para facilitar a detecção dos invertebrados. Os organismos foram então contados, fixados e, posteriormente foram separados em grupos funcionais, identificados até o menor nível taxonômico possível e medidos.

### Análise estatística

Nós utilizamos o método de partição multiplicativa de diversidade (multiplicative Diversity Partitioning) para decompor a diversidade  $\gamma$  em  $\alpha$  e  $\beta$  através de números equivalentes (Jost, 2007). Especificamente, nós verificamos a contribuição da alfa e beta diversidade entre bromélias ( $\alpha_1$  e  $\beta_1$ ) e entre blocos ( $\alpha_2$  e  $\beta_2$ ), para cada grupo biológico estudado - macrofauna, microfauna e bactérias. Cada planta individual representou o menor nível hierárquico seguido pela comparação entre os blocos experimentais, os quais foram organizados por tamanho da bromélia. Nessas análises nós utilizamos a função *multipart* do pacote *vegan* (Oksanen, *et al.* 2016).

O segundo passo foi avaliar qual componente da beta diversidade é mais importante para cada grupo biológico. A beta diversidade pode ser particionada em dissimilaridade por perda de espécies (*species nestedness*) e dissimilaridade por substituição de espécies (*species turnover*). Dessa maneira nós utilizamos o método desenvolvido por Baselga (2010) e Baselga & Orme (2012) para decompor a beta diversidade total, o índice de Sorensen ( $\beta_{\text{sor}}$ ), em dissimilaridade de Simpson ( $\beta_{\text{sim}}$ , componente de Turnover do índice de Sorensen) e  $\beta_{\text{sne}}$  (componente *nestedness* do índice de Sorensen). Os dados foram transformados em presença e ausência para padronização e analisados utilizando o pacote *betapart* (Baselga & Orme 2012).

Por fim, nós investigamos como a alfa diversidade e os componentes da beta diversidade de cada grupo biológico foram afetados pelo aumento da temperatura, redução no tamanho do habitat e mudança na diversidade de predadores de topo. Para analisar a alfa diversidade nós utilizamos a riqueza de espécies de cada grupo biológico e analisamos os dados através de ANCOVA fatorial de dois fatores (aquecimento e diversidade de predadores) utilizando o tamanho do habitat (volume) como covariável. A comparação entre os níveis de cada fator foi feita através de teste a posteriori de Tukey. A composição de espécies foi comparada através de análise de redundância baseado em distância (distance-based RDA) (Legendre & Anderson, 1999; McArdle & Anderson, 2001). Para avaliar a resposta de cada componente da beta diversidade (*nestedness* e *turnover*) aos tratamentos experimentais, nós utilizamos os valores de  $\beta_{\text{sim}}$  e  $\beta_{\text{sne}}$ , obtidos nas análises descritas acima (*betapart*, Baselga & Orme, 2012), como variável resposta e os analisamos através de análise de distance-based RDA (Legendre & Anderson, 1999; McArdle & Anderson, 2001). Para essa análise nós utilizamos a função *capscale* do pacote *vegan* (Oksanen *et al.*, 2016). Posteriormente, nós realizamos uma análise de rotação Procrustes a fim de verificar se as comunidades dos

diferentes grupos biológicos são concordantes quanto a estruturação em relação aos drivers experimentais (Jackson, 1995; Paavola *et al.*, 2006). O ProTest foi realizado utilizando as matrizes geradas pela análise de composição de espécies (dbRDA), com 9999 permutações para avaliação do nível de concordância entre as ordenações (i.e., a soma dos quadrados dos resíduos,  $m^2$ ) (Jackson 1995, Paavola *et al.*, 2006). Para essa análise foi utilizada a função *protest* do pacote *vegan* (Oksanen *et al.*, 2016). Todas as análises foram conduzidas utilizando o R versão 3.3.0 (R Core Team 2016).

## Resultados

Nós observamos uma ampla diversidade nos diferentes grupos biológicos. A macrofauna foi composta de 19.004 indivíduos distribuídos em 84 morfoespécies de diferentes grupos animais (vários grupos de insetos, crustáceos, anelídeos, nematoda). A microfauna foi composta de 54 morfoespécies pertencentes a diferentes grupos de organismos (ciliados, rotíferos, copépodos, Gastrotricha, amebas). Já a comunidade bacteriana foi composta de 34 UTOs. A diversidade total de espécies ( $\gamma$ ) de todos os grupos biológicos foi explicada principalmente pela diversidade local de cada bromélia (diversidade  $\alpha_1$ ) e bloco experimental (diversidade  $\alpha_2$ ) (Fig.1). A dissimilaridade de espécies da macrofauna e de bactérias, entre plantas (diversidade  $\beta_1$ ) e entre blocos experimentais (diversidade  $\beta_2$ ), teve pequena contribuição nas suas diversidades  $\gamma$ . Por outro lado, a diversidade  $\beta_2$  teve contribuição significativa para a diversidade  $\gamma$  da microfauna (Fig.1).

A riqueza de espécies (diversidade alfa) respondeu aos tratamentos de maneira distinta em cada grupo biológico (Tabela 1, Fig. 2). A riqueza da macrofauna foi maior em habitats maiores ( $F_{1,35} = 8.80$ ,  $P < 0.01$ ), porém, decresceu em 16% no tratamento com baixa diversidade de predadores (presença de *L. andromache*, Tukey HSD  $P < 0.05$ ) (Fig. 2A) e não foi afetada pelo aquecimento ( $F_{2,35} = 0.27$ ,  $P = 0.76$ ). Por outro lado, a riqueza da microfauna foi sensível tanto ao aquecimento ( $F_{2,35} = 5.51$ ,  $P < 0.01$ ) quanto às mudanças na diversidade de predadores ( $F_{2,35} = 10.51$ ,  $P < 0.001$ ), mas não pelo tamanho do habitat ( $F_{1,35} = 3.08$ ,  $P = 0.09$ ) (Fig.2B). A riqueza da microfauna foi 37% maior no tratamento com baixa diversidade de predadores em relação a tratamentos sem predadores (Tukey  $P < 0.01$ ), e 32% maior que no tratamento com alta diversidade de predadores (Tukey  $P < 0.05$ ). Os tratamentos com alta diversidade de predadores e ausência de predadores tiveram riqueza da microfauna semelhante. Bromélias mais quentes ( $+4^\circ\text{C}$ ) também tiveram maior riqueza na microfauna,



19% maior que bromélias em temperatura ambiente (Tukey  $P < 0.05$ ), mas semelhante a bromélias com aquecimento intermediário ( $+2^{\circ}\text{C}$ ). Houve interação entre aquecimento e diversidade de predadores na riqueza da microfauna ( $F_{2,35} = 3.16$ ,  $P = 0.027$ ), com efeito mais fraco do tratamento com maior diversidade de predadores de topo (4 spp.) em temperaturas mais elevadas ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) (Tukey HSD  $P < 0.05$ , Fig. 2B). A riqueza de bactérias (UTOs) foi resistente a todos os drivers experimentais, não sendo afetada pelo aquecimento, diversidade de predadores ou tamanho do habitat (Tabela 1, Fig. 2C).

Nós investigamos a contribuição de cada componente da beta diversidade dos três grupos biológicos. O  $\beta_{\text{sim}}$  (*turnover*) foi o componente mais importante da beta diversidade em todos os grupos biológicos analisados, contribuindo com 97% da beta diversidade da macrofauna, 98% da microfauna e 92 % para bactérias. Nós verificamos que a comunidade da macrofauna foi significativamente estruturada pela diversidade de predadores ( $F_{2,34} = 2.02$ ,  $P = 0.003$ , Fig. 3A) e pelo tamanho do habitat ( $F_{1,34} = 2.20$ ,  $P = 0.014$ , Fig. 3A). A composição da macrofauna foi distinta entre todos os níveis de diversidade de predadores de topo (Fig. 3A). Especificamente,  $\beta_{\text{sim}}$  (*turnover*) da macrofauna não foi afetado por nenhum dos drivers experimentais (Fig. S1A). Entretanto, o  $\beta_{\text{sne}}$  (*nestedness*), apesar de sua baixa contribuição na diversidade beta, foi afetado pelo tamanho do habitat ( $F_{1,39} = 5.64$ ,  $P = 0.009$ ) e diversidade de predadores ( $F_{2,39} = 4.91$ ,  $P = 0.002$ ), sendo distinta entre os tratamentos com baixa e alta diversidade de predadores (Fig. S2A).

A microfauna foi sensível a todos os drivers experimentais (dbRDA,  $P < 0.05$ , Fig. 3B), sendo estruturada pelo aquecimento ( $F_{2,38} = 1.85$ ,  $P = 0.007$ ), pela diversidade de predadores ( $F_{2,38} = 1.56$ ,  $P = 0.042$ ) e pelo tamanho do habitat ( $F_{1,38} = 2.32$ ,  $P = 0.006$ ). Bromélias submetidas a temperaturas mais elevadas ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) tiveram a composição da microfauna significativamente diferente das bromélias com aquecimento intermediário ( $+2^{\circ}\text{C}$ ) ou temperatura ambiente (Fig. 3B). O tamanho do habitat influenciou a composição de espécies da microfauna no sentido oposto ao tratamento de maior aquecimento (Fig. 3B). Adicionalmente, a microfauna foi distinta entre todos os níveis de diversidade de predadores de topo (Fig. 3B). O componente  $\beta_{\text{sim}}$  (*turnover*) da microfauna foi estruturado pelo aquecimento ( $F_{2,38} = 1.66$ ,  $P = 0.036$ ) e tamanho do habitat ( $F_{1,38} = 2.64$ ,  $P = 0.006$ ), mas não pela diversidade de predadores ( $F_{2,38} = 1.33$ ,  $P = 0.135$ ). Cenários de maior aquecimento tiveram  $\beta_{\text{sim}}$  distinto do cenário intermediário e temperatura ambiente (Fig. S1B). O componente  $\beta_{\text{sne}}$  (*nestedness*) foi estruturado apenas pela temperatura ( $F_{2,38} = 2.07$ ,  $P = 0.036$ ), com maior efeito nos cenários de maior aquecimento (Fig. S2B). Em contraste, a comunidade bacteriana não



foi alterada pelas variáveis experimentais (Fig. 3C,  $P < 0.05$ ), não sendo afetada pelo aquecimento ( $F_{2,39} = 1.14$ ,  $P = 0.249$ ), diversidade de predadores ( $F_{2,39} = 1.16$ ,  $P = 0.225$ ) ou tamanho do habitat ( $F_{1,39} = 1.33$ ,  $P = 0.152$ ), nem mesmo dentro de cada componente da beta diversidade (Fig. S1C e S2C).

A análise de ProTest mostrou que as comunidades da macrofauna, microfauna e bactéria não são concordantes (Tabela 2), respondendo de maneira distinta aos drivers experimentais e diferindo em sua estruturação.

## Discussão

Nossos resultados mostraram que a diversidade local foi a que melhor explicou a diversidade regional das comunidades de todos os grupos biológicos (macrofauna, microfauna e bactéria), principalmente dentro do bloco experimental. Dentre os componentes da beta diversidade, o componente mais importante foi o  $\beta_{sim}$  (*turnover*), indicando que a dissimilaridade entre as comunidades foi devida, principalmente, à substituição e não à perda de espécies. Adicionalmente, os grupos biológicos responderam de maneira distinta a cada estressor ambiental. A macrofauna foi sensível às mudanças na diversidade de predadores de topo e ao tamanho do habitat, tanto para a diversidade alfa quanto para a beta. A microfauna foi o grupo mais sensível às mudanças climáticas e tróficas, sendo que a diversidade alfa e beta foram afetadas pelo aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat. O tratamento com apenas uma espécie de predador causou maior impacto, especialmente na macrofauna, se comparado ao tratamento com maior diversidade de predadores. Em contraste, a comunidade bacteriana mostrou-se não susceptível às variações ambientais e tróficas. A comunidade de cada grupo biológico foi estruturada de maneira particular, não sendo concordantes entre si diante das mudanças no clima, habitat e diversidade de predadores.

O componente mais importante da diversidade gama para todos os grupos foi a diversidade alfa, dentro de cada bromélia ( $\alpha_1$ ) e dentro dos conjuntos de bromélias de tamanho semelhante (bloco) ( $\alpha_2$ ), o que demonstra que a diversidade local foi a que mais contribuiu para a diversidade regional dos grupos estudados. A baixa contribuição da beta diversidade na diversidade gama, principalmente para macrofauna e bactérias, sugere que estes grupos não são limitados por dispersão, já que possuem baixa dissimilaridade de espécies entre bromélias e entre blocos. Organismos com alta capacidade de dispersão são mais prováveis de manterem populações viáveis ao longo de habitats fragmentados

(Hendrickx *et al.*, 2009) (ou manchas de habitat, no nosso caso). Para organismos com dispersão passiva, a beta diversidade deve aumentar com o tamanho corporal, já que a capacidade de dispersão, nesse grupo, é inversamente relacionada ao tamanho do corpo (Soininen *et al.*, 2007a; Bie *et al.*, 2012). Nossos resultados corroboram essa predição. Bactérias, grupo de menor tamanho corporal, teve a menor contribuição da beta diversidade na diversidade regional. Por outro lado, a microfauna, dispersores passivos, mas com maior tamanho corporal, tiveram contribuição substancial da beta diversidade na diversidade regional, principalmente entre blocos. Apesar de outros estudos terem encontrado evidências da relação entre o tamanho corporal, a capacidade de dispersão e padrões espaciais na similaridade das comunidades, apenas poucos estudos o fizeram entre grupos biológicos distintos e em um mesmo local (Beisner *et al.*, 2006; Mazaris *et al.*, 2010; Astorga *et al.*, 2012; Bie *et al.*, 2012). Nossos resultados fortalecem o entendimento das relações entre tamanho corporal de grupos biológicos distintos e seus padrões de diversidade em escala local e regional. Como a diversidade local foi a que mais contribuiu para a diversidade regional dos diferentes grupos biológicos, é provável que processos locais sejam determinantes na estruturação desses organismos.

A diversidade beta, mesmo tendo pequena contribuição na diversidade regional na maioria dos grupos, foi explicada em sua maioria pela substituição de espécies (*turnover*). Outros estudos também evidenciaram a maior contribuição da substituição de espécies (*turnover*) na beta diversidade de organismos aquáticos variados, como fitoplânctons, diferentes grupos da microfauna (e.g., cladóceros e rotíferos), macroinvertebrados, peixes e macrófitas (Angeler, 2013; Viana *et al.*, 2015; Langer *et al.*, 2016). Esses estudos atribuem a maior importância do *turnover* na dissimilaridade de espécies a características ambientais específicas resultantes de gradientes espaciais ou temporais (Angeler, 2013; Viana *et al.*, 2015). Dessa maneira, o padrão de diversidade beta que encontramos, mesmo em uma escala de poucos metros e em um mesmo período amostral, pode ser resultante do nosso delineamento experimental e características particulares de cada bromélia. As bromélias receberam diferentes manipulações quanto à variação na temperatura, tamanho e predadores, alterando as dimensões dos nichos das espécies, e, consequentemente, contribuindo para a variação na composição das comunidades.

A resposta da biodiversidade ao aquecimento dependeu do grupo biológico. A riqueza e composição de bactérias e da macrofauna não foram afetadas pela temperatura. É provável que estes organismos, por viverem em um ambiente altamente variável, possuam

atributos adaptativos, permitindo maior resistência ou resiliência às mudanças na temperatura (de Senerpont Domis *et al.*, 2013, Gruner *et al.* 2016). De fato, bromélias tanque são microecossistemas aquáticos que sofrem alta variação diária de temperatura, chegando a 13°C de variação em um único dia no nosso estudo. Assim, é possível que organismos bromelícolas sejam bem adaptados às mudanças de temperatura, sugerindo que algumas espécies podem ser resistentes ou resilientes às mudanças climáticas (Moritz & Agudo 2013), principalmente pela utilização de microhabitats como refúgios contra distúrbios ambientais (Berg *et al.* 2010, Scheffers *et al.* 2014). A microfauna, entretanto, foi sensível ao aumento de temperatura. O aquecimento aumentou a riqueza de espécies e alterou a composição da microfauna. O aumento na riqueza de espécies com o aumento da temperatura também foi observado em outros organismos aquáticos em escala local (Rosset *et al.*, 2010) e regional (Hiddink & Ter Hofstede, 2008). No nosso estudo, um dos mecanismos responsáveis por esse aumento da diversidade seria o aumento na produtividade do recurso (Cusens *et al.*, 2012, Gillman *et al.*, 2015, mas veja Huston & Wolverton, 2009). De fato, o aquecimento aumentou a produtividade primária em nosso estudo (Antiqueira, cap 1). Como grande parte da microfauna se alimenta das algas, é possível que a maior produtividade primária em ambientes mais quentes (Petchey *et al.*, 1999) tenha permitido a ocorrência de um maior número de espécies (Chase, 2010; Harrison *et al.*, 2011; Schuler *et al.*, 2014). Assim, a temperatura teria beneficiado a riqueza da microfauna por potencializar efeitos *bottom-up* (Harrison *et al.*, 2011). O aumento na temperatura também afetou a composição da microfauna, afetando tanto a substituição ( $\beta_{sim}$ ) quanto a perda ( $\beta_{sne}$ ) de espécies nesse grupo. Dessa maneira, locais com temperaturas mais elevadas tiveram composição distinta tanto pela exclusão de espécies existentes em outras comunidades quanto pela ocorrência de espécies mais adaptadas ao ambiente mais quente. Esse resultado sugere que mudanças climáticas podem ser determinantes para a biodiversidade da microfauna, com exclusão de espécies mais sensíveis e favorecimento de espécies mais adaptadas (Petchey *et al.*, 1999, Nelson *et al.*, 2016). Esse cenário, porém, pode ser preocupante se espécies mais adaptadas forem invasoras, as quais podem causar impactos ainda mais intensos na biodiversidade favorecidas pelas mudanças no clima (Hellman *et al.*, 2008; Rahel & Olden, 2008). Nossos resultados demonstram que o efeito da temperatura nos organismos aquáticos é espécie-específico, sendo dependente das características do grupo biológico estudado e de sua relação com a produtividade primária.

A perda de predadores de topo afetou fortemente a diversidade da maioria dos grupos biológicos estudados. O tratamento com uma espécie de predador (*Leptagrion andromache*) diminuiu a riqueza da macrofauna, causando maior impacto quando sozinho do que quando na presença de outros predadores. A diversidade de predadores também alterou a composição de espécies da macrofauna, devido à perda de espécies, já que o  $\beta_{sne}$  (*nestedness*) foi o único componente da diversidade beta afetado neste grupo. Assim, o efeito da predação na composição da macrofauna foi devido à redução de espécies causada pelos predadores. Por outro lado, a baixa diversidade de espécies de predadores aumentou a riqueza da microfauna, provavelmente devido a um efeito indireto da diversidade de predadores na microfauna, mediado pela diversidade da macrofauna. Muitas espécies da macrofauna são predadoras de organismos da microfauna, como por exemplo, espécies filtradoras (e.g. culicídeos) (Trzcinski *et al.*, 2016), as quais foram muito abundantes e diversas no nosso estudo (>6.500 indivíduos, 18 espécies). De fato, *L. andromache* decresceu em 32% a diversidade e em 67% a abundância dos filtradores da macrofauna (ANOVA:  $P < 0.05$ , Fig. S4). A queda na diversidade de filtradores, provocada por *L. andromache* possivelmente liberou a microfauna de um controle top-down, permitindo uma maior riqueza nesse grupo. Existem dois mecanismos possíveis para explicar o maior impacto causado pelo tratamento com uma espécie de predador no nosso estudo: a espécie *L. andromache* seria mais eficiente no consumo de macroinvertebrados do que outras espécies predadoras ou que tenha ocorrido interação intraguilda (Polis *et al.*, 1989, Holt & Polis 1997), enfraquecendo o efeito da predação no tratamento com maior diversidade de predadores. A interação intraguilda pode ocorrer através do consumo, quando uma espécie de predador remove a outra, ou pelo comportamento, quando a presença de múltiplos predadores altera os comportamentos de predação das espécies, diminuindo suas taxas de consumo e, conseqüentemente, o ganho de biomassa. Nossos resultados não apoiaram a ocorrência de interação intraguilda. O ganho de biomassa do predador dominante *L. andromache* foi semelhante nos tratamentos de alta e baixa diversidade de predadores (Figura S3) e não observamos a extinção de predadores no tratamento de maior diversidade. Assim, provavelmente a eficiência de forrageamento de *L. andromache* tem efeitos mais intensos sobre a fauna aquática do que os efeitos combinados de várias espécies de predadores. Esses resultados demonstram que a identidade do predador foi determinante sobre como a predação afeta a comunidade. Essa espécie de predador bromelícola é generalista e dominante no sistema. Predadores generalistas podem ter efeitos mais intensos na comunidade do que especialistas, consumindo um maior número de espécies

de presas e afetando as diversidades alfa e beta das comunidades (Johnston *et al.* 2016). Nossos resultados demonstram como alterações na diversidade horizontal e vertical do sistema afetam a cascata trófica e os efeitos nos diferentes grupos biológicos e níveis tróficos.

Além dos efeitos isolados da predação, o efeito da diversidade de predadores de topo na microfauna foi dependente da temperatura. O tratamento com apenas um predador teve um efeito ainda mais intenso na riqueza da microfauna quando em cenários de maior aquecimento (+4°C, Fig. 2B). Possivelmente, esse efeito dos predadores na microfauna foi indireto, mediado pelo efeito direto negativo na comunidade da macrofauna. Apesar do aquecimento não ter afetado a diversidade da macrofauna diretamente, maior temperatura possivelmente aumentou a demanda metabólica dos predadores de topo, que capturaram mais predadores da microfauna (culicídeos) (Vucic-Pestic *et al.* 2011). Alternativamente, maior temperatura potencializou o efeito de atributos do predador (e.g., cairomônios, Marino *et al.* 2015) que afetam o comportamento (Juliano & Gravel 2002, Kesavaraju *et al.* 2007), abundância ou biomassa de presas (Marino *et al.* 2015), liberando a microfauna de um controle top-down. Dessa maneira, o aquecimento pode ter fortalecido os efeitos indiretos positivos dos predadores de topo (*L. andromache*) na riqueza da microfauna. Entretanto, esse efeito depende também da identidade do predador (Barton & Schmitz 2009). É possível que o predador dominante em nosso sistema de estudo (*L. andromache*) tenha sido mais resistente ao aquecimento. Esses resultados sugerem que o impacto da diversidade de predadores na biodiversidade aquática em cenários de mudanças climáticas depende da identidade do predador, bem como das suas respostas fisiológicas, e da sua resistência ao aquecimento do clima (Zarnetske *et al.* 2012, Romero *et al.* 2016). É possível que o aquecimento predito para as próximas décadas afete a biodiversidade tanto de maneira direta quanto indireta, através de alterações nas relações tróficas.

O tamanho do habitat afetou a composição de espécies da micro e da macrofauna. Entretanto, o tamanho do habitat afetou a riqueza apenas da macrofauna. Habitats maiores tiveram maior riqueza da macrofauna, corroborando a relação entre diversidade de espécies e tamanho do habitat (Dobson *et al.* 2006, Srivastava *et al.* 2008). A composição da macrofauna também foi estruturada pelo tamanho do habitat, porém, afetando apenas o componente *nestedness* da diversidade beta, sugerindo que o efeito do habitat na dissimilaridade deste grupo ocorreu por perda de espécies. De fato, muitos organismos ocorrem mais frequentemente em habitats maiores, principalmente espécies de níveis tróficos superiores (Srivastava *et al.*, 2008; Petermann *et al.*, 2015). O tamanho do habitat não afetou a riqueza

da microfauna, mas alterou sua composição de espécies. Assim, o número de espécies da microfauna se manteve diante de alterações do habitat, mas com mudanças na identidade. Essa dissimilaridade da microfauna em resposta ao tamanho do habitat ocorreu por substituição de espécies ( $\beta_{sim}$ ), sugerindo a ocorrência de espécies com preferência a habitats de tamanho específico. Por outro lado, a diversidade de bactérias não foi afetada pelas mudanças no tamanho do habitat, demonstrando que ao menos os grupos mais dominantes de bactérias (amostrados através de DGGE) não são afetados pela alteração no tamanho habitat, possivelmente pela plasticidade desse grupo em bromélias. Estes resultados demonstram que a alteração no tamanho habitat pode afetar diferentes componentes da diversidade da macro e microfauna, porém através de mecanismos distintos na perda ou substituição de espécies.

As características do habitat também podem influenciar na resposta das espécies às mudanças climáticas (Mantyka-Pringle *et al.*, 2012). O impacto do tamanho do habitat na composição da microfauna teve direção oposta ao tratamento de maior aquecimento. Esse resultado sugere que habitats maiores podem conter espécies que não ocorrem em ambientes mais quentes e, portanto, sensíveis ao aquecimento, compensando assim os efeitos do aquecimento do clima na composição da microfauna. Sabe-se que os efeitos das mudanças climáticas na biodiversidade podem ser agravados com a perda de habitats (Mantyka-Pringle *et al.*, 2012); porém, esta resposta parece ser dependente do grupo biológico (i.e., afetando mais a microfauna) e parece ser compensada pela existência de micro-habitats mais adequados, que servem como refúgios contra distúrbios climáticos (Berg *et al.* 2010, Scheffers *et al.* 2014). A conservação de habitat para combater a perda da diversidade se faz ainda mais importante quando consideramos a particularidade de cada grupo biológico diante da perda de habitat e sua relação com as mudanças climáticas.

Nosso estudo evidenciou uma forte particularidade de cada grupo biológico em resposta às mudanças ambientais e diversidade de predadores. Nós demonstramos empiricamente que alterações no nicho das espécies são determinantes na estruturação das comunidades aquáticas. Cada um dos componentes do nicho (temperatura, diversidade de predadores e tamanho do habitat) contribuiu conjuntamente para os padrões de diversidade da macrofauna e microfauna, influenciando na riqueza e composição das espécies. Porém, bactérias parecem possuir um nicho mais amplo, sendo tolerante às mudanças ambientais e tróficas do estudo. Como no nosso estudo os grupos não foram limitados por dispersão, possivelmente houve maior ocorrência de processos determinísticos locais (relacionados ao nicho das espécies) do que processos estocásticos na montagem das comunidades aquáticas

estudadas. Há um intenso debate na literatura sobre a importância de processos determinísticos e estocásticos na montagem de comunidades ecológicas (Hubbell, 2001, Chase & Leibold, 2003, Logue *et al.* 2011), e alguns estudos reportaram que ambos os mecanismos podem atuar de maneira conjunta na determinação dos padrões de diversidade de espécies (Tilman, 2004, Leibold & McPeck, 2006, Logue *et al.* 2011). Nossos resultados, mostraram que em escala local os processos relacionados ao nicho das espécies são mais importantes na estruturação da diversidade de macro e micro-organismos. As alterações antropogênicas ocorrem de maneira conjunta (Sala *et al.* 2000) e podem afetar diferentes dimensões do nicho das espécies (Bellard *et al.* 2012), alterando profundamente os padrões de diversidade de organismos de diferentes níveis tróficos. Dessa maneira, a resposta da biodiversidade às mudanças globais pode variar de acordo com os grupos biológicos e os impactos ambientais causados. Essa gama de impactos antrópicos e suas consequências para a biota faz com que os efeitos preditos das mudanças antropogênicas sobre a biodiversidade possam estar sendo subestimados.

Nossos resultados esclarecem discussões atuais sobre a estruturação de metacomunidades de macro e micro-organismos, além dos mecanismos pelos quais mudanças antropogênicas afetam a biodiversidade. Macro e micro-organismos foram estruturados principalmente por processos determinísticos, já que características locais, como temperatura, diversidade de predadores e tamanho do habitat, afetaram fortemente a distribuição das espécies. Nós demonstramos que a comunidade da macrofauna, microfauna e bactérias possuem características particulares quanto à estruturação da comunidade diante de diferentes impactos bióticos e abióticos. Organismos de ambientes de água doce de ambientes rasos, como mesocosmos naturais, parecem ser resistentes ao aquecimento, mas alguns grupos podem sofrer efeitos indiretos decorrentes de interações tróficas e alterações na produtividade do ecossistema. O efeito das mudanças climáticas na biodiversidade parece ser mais complexo do que se imaginava, podendo potencializar ou amortecer o efeito de predação (*top-down*) e obtenção de recursos (*bottom-up*). Nossos resultados sugerem que o atual decréscimo da diversidade de predadores de topo, decorrente das diferentes atividades antrópicas, afeta substancialmente a diversidade taxonômica em diferentes grupos biológicos e níveis tróficos, tanto diretamente, quanto indiretamente. Por outro lado, a conservação de habitats maiores pode amortecer os impactos antropogênicos na biodiversidade, como aquecimento climático e perda de predadores. Devido à complexidade de respostas da biodiversidade em face aos diferentes estressores ambientais, nós enfatizamos a necessidade de uma abordagem



multitrófica e multiespecífica na avaliação dos efeitos isolados e interativos dos impactos antropogênicos na biodiversidade.

### Agradecimentos

Agradecemos a A.L. Mendonça, J. T. Macedo, B.M. De Oliveira, P.M. De Omena, G.H. Migliorini pela ajuda na pesquisa de campo e triagem dos invertebrados; V.P. Santos pelo auxílio nas análises bacterianas; F.R.F. de Oliveira, L.F.M. Velho e ao laboratório de protozoologia pelo auxílio nas identificações da microfauna; a T. Gonçalves-Souza pelo suporte estatístico e por sugestões nas primeiras versões do manuscrito; S.A. Vieira, H.M.P.M Sarmiento, S.F. Reis, M.M. Pires, M.F.K. Becker, P.M. Omena pelas valiosas contribuições com sugestões nas primeiras versões do manuscrito. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) coordenado por G.Q. Romero. P.A.P. Antikeira recebeu financiamento bolsa de doutorado da FAPESP (Proc. # 2014/04603-4). G.Q. Romero foi apoiado por uma bolsa de pesquisa do CNPq-Brasil.

### References

- Allan JD, Palmer MA, Poff NL (2005) Climate change and freshwater ecosystems. In: Lovejoy, TE, Hannah, L (eds.) *Climate Change and Biodiversity*. pp. 272–290. Yale University Press, New Haven.
- Angeler DG (2013) Revealing a conservation challenge through partitioned long-term beta diversity: increasing turnover and decreasing nestedness of boreal lake metacommunities. *Diversity and Distributions*, **19**, 772-781.
- Astorga A, Oksanen J, Luoto M, Soininen J, Virtanen R, Muotka T (2012) Distance decay of similarity in freshwater communities: do macro-and microorganisms follow the same rules?. *Global Ecology and Biogeography*, **21**, 365-375.
- Atwood TB, Hammill E, Greig HS, Kratina P, Shurin JB, Srivastava DS, Richardson JS (2013) Predator-induced reduction of freshwater carbon dioxide emissions. *Nature Geoscience*, **6**, 191–194.
- Barton BT, Schmitz OJ (2009) Experimental warming transforms multiple predator effects in a grassland food web. *Ecology Letters*, **12**, 1317-1325.
- Baselga A (2010) Partitioning the turnover and nestedness components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, **19**, 134-143.
- Baselga A, Orme CDL (2012) betapart: an R package for the study of beta



- diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 808-812.
- Beisner, BE, Peres-Neto, PR, Lindström, ES, Barnett, A, Longhi, ML (2006) The role of environmental and spatial processes in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology*, **87**, 2985-2991.
- Benzing, DH (ed.) (2000) *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press.
- Berg MP, Kiers E, Driessen G, *et al.* (2010) Adapt or disperse: understanding species persistence in a changing world. *Global Change Biology*, **16**, 587-598.
- Bie T, Meester L, Brendonck L *et al.* (2012) Body size and dispersal mode as key traits determining metacommunity structure of aquatic organisms. *Ecology Letters*, **15**, 740-747.
- Binzer A, Guill C, Rall BC, Brose U (2016) Interactive effects of warming, eutrophication and size structure: impacts on biodiversity and food-web structure. *Global Change Biology*, **22**, 220-227.
- Brose U, Dunne JA, Montoya JM, Petchey OL, Schneider FD, Jacob U (2012) Climate change in size-structured ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **367**, 2903-2912.
- Bruno JF, O'Connor MI (2005) Cascading effects of predator diversity and omnivory in a marine food web. *Ecology Letters*, **8**, 1048-1056.
- Bruno JF, Cardinale BJ (2008) Cascading effects of predator richness. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **6**, 539-546.
- Butchart SH, Walpole M, Collen B, *et al.* (2010) Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, **328**, 1164-1168.
- Carpenter SR, Fisher SG, Grimm NB, Kitchell JF (1992) Global change and freshwater ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **23**, 119-139.
- Chase JM, Leibold MA (2003) *Ecological niches: linking classical and contemporary approaches*. University of Chicago Press.
- Chase JM (2010) Stochastic community assembly causes higher biodiversity in more productive environments. *Science*, **328**, 1388-1391.
- Cogliatti-Carvalho L, Rocha-Pessôa TC, Nunes-Freitas AF, Rocha CFD (2010) Volume de água armazenado no tanque de bromélias, em restingas da costa brasileira. *Acta Botanica Brasilica*, **24**, 84-95.
- Corbet PS (1999) *Dragonflies: behaviour and ecology of Odonata*. Harley Books.

- Costa JM, Oldrini BB, Anjos-Santos D (2009) Eight new *Leptagrion* larvae from Brazil (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica*, **38**, 93-111.
- Cusens J, Wright SD, McBride PD, Gillman LN (2012) What is the form of the productivity–animal-species-richness relationship? A critical review and meta-analysis. *Ecology*, **93**, 2241-2252.
- De Omena PM (2014) Effects of predators on bromeliad-aquatic arthropod communities and ecosystem functioning. PhD Thesis. University of Campinas, Brazil.
- De Senerpont Domis LN, Elser JJ, Gsell AS *et al.* (2013) Plankton dynamics under different climatic conditions in space and time. *Freshwater Biology*, **58**, 463-482.
- Declerck SA, Winter C, Shurin JB, Suttle CA, Matthews B (2013) Effects of patch connectivity and heterogeneity on metacommunity structure of planktonic bacteria and viruses. *The ISME journal*, **7**, 533-542.
- Denoth M, Frid L, Myers JH (2002) Multiple agents in biological control: improving the odds?. *Biological control*, **24**, 20-30.
- Dobson A, Lodge D, Alder J *et al.* (2006) Habitat loss, trophic collapse, and the decline of ecosystem services. *Ecology*, **87**, 1915-1924.
- Estes JA, Terborgh J, Brashares JS *et al.* (2011) Trophic downgrading of planet Earth. *science*, **333**, 301-306.
- Farjalla VF, Srivastava DS, Marino NA *et al.* (2012) Ecological determinism increases with organism size. *Ecology*, **93**, 1752-1759.
- Finke DL, Denno RF (2004) Predator diversity dampens trophic cascades. *Nature*, **429**, 407-410.
- Finke DL, Denno RF (2005) Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. *Ecology letters*, **8**, 1299-1306.
- Finlay BJ (2002) Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science*, **296**, 1061-1063.
- Gillman LN, Wright SD, Cusens J, McBride PD, Malhi Y, Whittaker RJ (2015) Latitude, productivity and species richness. *Global Ecology and Biogeography*, **24**, 107-117.
- Gonçalves-Souza T, Brescovit AD, Rossa-Feres DDC, Romero GQ (2010) Bromeliads as biodiversity amplifiers and habitat segregation of spider communities in a Neotropical rainforest. *Journal of Arachnology*, **38**, 270-279.

- Gossner, MM *et al.* (2016) Land-use intensification causes multitrophic homogenization of grassland communities. *Nature*, doi:10.1038/nature20575.
- Greig HS, Kratina P, Thompson PL, Palen WJ, Richardson JS, Shurin JB (2012) Warming, eutrophication, and predator loss amplify subsidies between aquatic and terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, **18**, 504-514.
- Griffin JN, De La Haye KL, Hawkins SJ, Thompson RC, Jenkins SR (2008) Predator diversity and ecosystem functioning: density modifies the effect of resource partitioning. *Ecology*, **89**, 298-305.
- Gruner DS, Bracken ME, Berger SA *et al.* (2016) Effects of experimental warming on biodiversity depend on ecosystem type and local species composition. *Oikos* doi: 10.1111/oik.03688.
- Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J *et al.* (2015) Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, **1**, e1500052.
- Hammill E, Atwood TB, Srivastava DS (2015) Predation threat alters composition and functioning of bromeliad ecosystems. *Ecosystems*, **18**, 857–866.
- Harrison S, Vellend M, Damschen EI (2011) 'Structured' beta diversity increases with climatic productivity in a classic dataset. *Ecosphere*, **2**, 1-13.
- Hellmann JJ, Byers JE, Bierwagen BG, Dukes JS (2008) Five potential consequences of climate change for invasive species. *Conservation biology*, **22**, 534-543.
- Hendrickx F, Maelfait JP, Desender K *et al.* (2009) Pervasive effects of dispersal limitation on within-and among-community species richness in agricultural landscapes. *Global Ecology and Biogeography*, **18**, 607-616.
- Hiddink JG, Ter Hofstede R (2008) Climate induced increases in species richness of marine fishes. *Global change biology*, **14**, 453-460.
- Hillebrand H, Watermann F, Karez R, Berninger UG (2001) Differences in species richness patterns between unicellular and multicellular organisms. *Oecologia*, **126**, 114-124.
- Holt RD, Polis GA (1997) A theoretical framework for intraguild predation. *The American Naturalist*, **149**, 745-764.
- Hubbell SP (2001) *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography* (MPB-32) (Vol. 32). Princeton University Press.
- Huston MA, Wolverton S (2009) The global distribution of net primary production:

- resolving the paradox. *Ecological Monographs*, **79**, 343-377.
- IPCC (2014) *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds) Core Writing Team, Pachauri RK, Meyer LA), pp. 151. IPCC, Geneva, Switzerland.
- Jackman R, Nowicki S, Aneshansley DJ, Eisner T (1983) Predatory capture of toads by fly larvae. *Science*, **222**, 515-516.
- Jackson DA (1995) PROTEST: a PROcrustean randomization TEST of community environment concordance. *Ecoscience*, **2**, 297-303.
- Johnston NK, Pu Z, Jiang L (2016) Predator identity influences metacommunity assembly. *Journal of Animal Ecology*. DOI: 10.1111/1365-2656.12551.
- Jost L (2007) Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology*, **88**, 2427-2439.
- Juliano SA, Gravel ME (2002) Predation and the evolution of prey behavior: an experiment with tree hole mosquitoes. *Behavioral Ecology*, **13**, 301-311.
- Kesavaraju B, Damal K, Juliano SA (2007) Threat-Sensitive Behavioral Responses to Concentrations of Water-Borne Cues from Predation. *Ethology*, **113**, 199-206.
- Kordas RL, Dudgeon S, Storey S, Harley CD (2015) Intertidal community responses to field-based experimental warming. *Oikos*, **124**, 888-898.
- Kratina P, Greig HS, Thompson PL, Carvalho-Pereira TS, Shurin JB (2012) Warming modifies trophic cascades and eutrophication in experimental freshwater communities. *Ecology*, **93**, 1421-1430.
- Langer TA, Murry BA, Pangle KL, Uzarski DG (2016) Species turnover drives  $\beta$ -diversity patterns across multiple spatial and temporal scales in Great Lake Coastal Wetland Communities. *Hydrobiologia*, **777**, 55-66.
- Lavergne S, Mouquet N, Thuiller W, Ronce O (2010) Biodiversity and climate change: integrating evolutionary and ecological responses of species and communities. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **41**, 321-350.
- Legendre P, Anderson MJ (1999) Distance-based redundancy analysis: testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecological Monographs*, **69**, 1-24.
- Legendre P (2014) Interpreting the replacement and richness difference components of beta diversity. *Global Ecology and Biogeography*, **23**, 1324-1334.

- Leibold MA, Holyoak M, Mouquet N *et al.* (2004) The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology letters*, **7**, 601-613.
- Leibold MA, McPeck MA (2006) Coexistence of the niche and neutral perspectives in community ecology. *Ecology*, **87**, 1399-1410.
- Logue JB, Mouquet N, Peter H *et al.* (2011) Empirical approaches to metacommunities: a review and comparison with theory. *Trends in ecology & evolution*, **26**, 482-491.
- McArdle BH, Anderson MJ (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, **82**, 290-297.
- MacArthur RH, Wilson EO (1967) *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Mantyka-Pringle CS, Martin TG, Rhodes JR (2012) Interactions between climate and habitat loss effects on biodiversity: a systematic review and meta-analysis. *Global Change Biology*, **18**, 1239-1252.
- Marengo JA, Jones R, Alves LM, Valverde MC (2009) Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *International Journal of Climatology* **29**, 2241-2255.
- Marengo JA, Ambrizzi T, da Rocha RP *et al.* (2010) Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Climate Dynamics*, **35**, 1089-1113.
- Marino NA, Srivastava DS, Farjalla VF (2015) Predator kairomones change food web structure and function, regardless of cues from consumed prey. *Oikos*, **125**, 1017–1026.
- Marino NA, Srivastava DS, MacDonald AAM, Leal JS, Campos A, Farjalla VF *et al.* (2016) Rainfall and hydrological stability alter the impact of top predators on food web structure and function. *Global Change Biology* doi:10.1111/gcb.13399.
- Mazaris AD, Moustaka-Gouni M, Michaloudi E, Bobori DC (2010) Biogeographical patterns of freshwater micro-and macroorganisms: a comparison between phytoplankton, zooplankton and fish in the eastern Mediterranean. *Journal of Biogeography*, **37**, 1341-1351.
- Meyer JL, Sale MJ, Mulholland PJ, Poff NL (1999) Impacts of climate change on

- aquatic ecosystem functioning and health. Journal of the American Water Resources Association, **35**, 1373–1386.
- Moritz C, Agudo R (2013) The future of species under climate change: resilience or decline?. Science, **341**, 504-508.
- Muzon J, Muñoz SW, Campos R (2009) Description of the bromeliad-dwelling final instar larva of *Leptagrion andromache* Hagen in Selys (Zygoptera: Coenagrionidae). Zootaxa, **2089**, 65-68.
- Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Appl. Environ. Microbiol. **59**, 695-700.
- Ngai JT, Srivastava DS (2006) Predators accelerate nutrient cycling in a bromeliad ecosystem. Science, **314**, 963-963.
- Nelson D, Benstead JP, Huryn AD *et al.* (2016) Experimental whole-stream warming alters community size structure. Global Change Biology. DOI:10.1111/gcb.13574
- Nilsson E, Olsson K, Persson A, Nyström P, Svensson G, Nilsson U (2008) Effects of stream predator richness on the prey community and ecosystem attributes. Oecologia, **157**, 641-651.
- Nowicki S, Eisner T (1983) Predatory behavior of bombardier beetles by a tabanid fly larva. Psyche, **90**, 119-122.
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R *et al.* (2016) vegan: Community Ecology Package. R package version 2.3-5. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Otto SB, Berlow EL, Rank NE, Smiley J, Brose U (2008) Predator diversity and identity drive interaction strength and trophic cascades in a food web. Ecology, **89**, 134-144.
- Paavola R, Muotka T, Virtanen R, Heino J, Jackson D, Mäki-Petäys A (2006) Spatial scale affects community concordance among fishes, benthic macroinvertebrates, and bryophytes in streams. Ecological Applications, **16**, 368-379.
- Parmesan C (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, **37**, 637-669.
- PBMC (2015) Executive summary: impact, vulnerability and adaptation to climate

- change. In: *Primeiro Relatório de Avaliação Nacional Sobre Mudanças Climáticas (RANI) of the Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas (PBMC)* (eds Assad ED, Magalhaes AR), pp. 31. COPPE, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- Perkins DM, Bailey RA, Dossena M, Gamfeldt L, Reiss J, Trimmer M, Woodward G (2015) Higher biodiversity is required to sustain multiple ecosystem processes across temperature regimes. *Global change biology*, **21**, 396-406.
- Petchey OL, McPhearson PT, Casey TM, Morin PJ (1999) Environmental warming alters food-web structure and ecosystem function. *Nature*, **402**, 69-72.
- Petchey OL, Downing AL, Mittelbach GG, Persson L, Steiner CF, Warren PH, Woodward G (2004) Species loss and the structure and functioning of multitrophic aquatic systems. *Oikos*, **104**, 467-478.
- Petermann JS, Farjalla VF, Jocque M *et al.* (2015) Dominant predators mediate the impact of habitat size on trophic structure in bromeliad invertebrate communities. *Ecology*, **96**, 428–439.
- Polis GA, Myers CA, Holt, RD (1989) The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual review of ecology and systematics*, **20**, 297-330.
- R Core Team (2016) R: *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rahel FJ, Olden JD (2008) Assessing the effects of climate change on aquatic invasive species. *Conservation Biology*, **22**, 521-533.
- Richardson BA, Richardson MJ, Scatena FN, McDowell WH (2000) Effects of nutrient availability and other elevational changes on bromeliad populations and their invertebrate communities in a humid tropical forest in Puerto Rico. *Journal of Tropical Ecology*, **16**, 167-188.
- Rocha CFD, Cogliatti-Carvalho L, Almeida DR, Freitas AFN (2000) Bromeliads: biodiversity amplifiers. *Journal of the Bromeliad Society*, **50**, 81–83.
- Romero GQ, Piccoli GC, de Omena PM, Gonçalves-Souza T (2016) Food web structure shaped by habitat size and climate across a latitudinal gradient. *Ecology*, **97**, 2705-2715.
- Rosset V, Lehmann A, Oertli B (2010) Warmer and richer? Predicting the impact of climate warming on species richness in small temperate waterbodies. *Global Change Biology*, **16**, 2376-2387.
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ *et al.* (2000) Global biodiversity scenarios for the



- year 2100. *Science*, **287**, 1770-1774.
- Sanchez M, Pedroni F, Leitão-Filho HDF, Cesar O (1999) Composição florística de um trecho de floresta ripária na Mata Atlântica em Picinguaba, Ubatuba, SP. *Brazilian Journal of Botany*, **22**, 31-42.
- Scheffers BR, Edwards DP, Diesmos A, Williams SE, Evans TA (2014) Microhabitats reduce animal's exposure to climate extremes. *Global Change Biology*, **20**, 495-503.
- Schmitz OJ (2007) Predator diversity and trophic interactions. *Ecology*, **88**, 2415-2426.
- Schmitz OJ, Hawlena D, Trussell GC (2010) Predator control of ecosystem nutrient dynamics. *Ecology Letters*, **13**, 1199-1209.
- Schuler MS, Chase JM, Knight TM (2015) More individuals drive the species energy–area relationship in an experimental zooplankton community. *Oikos*, **124**, 1065-1070.
- Sentis A, Hemptinne JL, Brodeur J (2014) Towards a mechanistic understanding of temperature and enrichment effects on species interaction strength, omnivory and food-web structure. *Ecology letters*, **17**, 785-793.
- Sentis A, Gémard C, Jaugeon B, Boukal DS (2016) Predator diversity and environmental change modify the strengths of trophic and non-trophic interactions. *Global Change Biology*. DOI: 10.1111/gcb.13560
- Shurin JB, Cottenie K, Hillebrand H (2009) Spatial autocorrelation and dispersal limitation in freshwater organisms. *Oecologia*, **159**, 151-159.
- Shurin JB, Clasen JL, Greig HS, Kratina P, Thompson PL (2012) Warming shifts top-down and bottom-up control of pond food web structure and function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **367**, 3008-3017.
- Sih A, Englund G, Wooster D (1998) Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends in ecology & evolution*, **13**, 350-355.
- Socolar JB, Gilroy JJ, Kunin WE, Edwards DP (2016) How should beta-diversity inform biodiversity conservation?. *Trends in ecology & evolution*, **31**, 67-80.
- Soininen J, Lennon JJ, Hillebrand H (2007) A multivariate analysis of beta diversity across organisms and environments. *Ecology*, **88**, 2830-2838.
- Straub CS, Snyder WE (2006) Species identity dominates the relationship between predator biodiversity and herbivore suppression. *Ecology*, **87**, 277-282.



- Srivastava DS, Kolasa J, Bengtsson J *et al.* (2004) Are natural microcosms useful model systems for ecology?. *Trends in ecology & evolution*, **19**, 379-384.
- Srivastava DS, Trzcinski MK, Richardson BA, Gilbert B (2008) Why are predators more sensitive to habitat size than their prey? Insights from bromeliad insect food webs. *The American Naturalist*, **172**, 761-771.
- Srivastava DS, Bell T (2009) Reducing horizontal and vertical diversity in a foodweb triggers extinctions and impacts functions. *Ecology letters*, **12**, 1016-1028.
- Starzomski BM, Suen D, Srivastava DS (2010) Predation and facilitation determine chironomid emergence in a bromeliad-insect food web. *Ecological Entomology*, **35**, 53-60.
- Thompson CL (2014) Analysis of Community Dynamics in Environmental Samples Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. In: *Environmental Microbiology: Methods and Protocols* (eds Paulsen, I.T. & Holmes, A.J.), pp. 45-55. Humana Press.
- Tilman D (2004) Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: a stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 10854-10861.
- Trzcinski MK, Srivastava DS, Corbara B, *et al.* (2016) The effects of food web structure on ecosystem function exceeds those of precipitation. *Journal of Animal Ecology*, **85**, 1147-1160
- Turney S, Buddle CM (2016) Pyramids of species richness: the determinants and distribution of species diversity across trophic levels. *Oikos*, **125**, 1224-1232
- Urban MC (2015) Accelerating extinction risk from climate change. *Science*, **348**, 571-573.
- Vázquez DP, Gianoli E, Morris WF, Bozinovic F (2015) Ecological and evolutionary impacts of changing climatic variability. *Biological Reviews*. DOI:10.1111/brv.12216.
- Viana DS, Figuerola J, Schwenk K *et al.* (2016) Assembly mechanisms determining high species turnover in aquatic communities over regional and continental scales. *Ecography*, **39**, 281-288.
- Walther GR (2010) Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 2019-2024.
- Woodward G, Perkins DM, Brown LE (2010) Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **365**, 2093-2106.
- Yang H, Wu M, Liu W, Zhang ZHE, Zhang N, Wan S (2011) Community structure

- and composition in response to climate change in a temperate steppe. *Global Change Biology*, **17**, 452-465.
- Zaluar, HLT, Scarano, FR (2000) Facilitação em restingas de moitas: um século de buscas por espécies focais. In: Esteves, FA, Lacerda, LD (eds.) *Ecologia de restingas e lagoas costeiras*. NUPEM/ UFRJ, Macaé. Pp. 3-23.
- Zarnetske PL, Skelly DK, Urban MC (2012) Biotic multipliers of climate change. *Science*, **336**, 1516-1518.
- Zillikens A, Gorayeb IDS, Steiner J, Marcondes CB (2005) Aquatic larvae and pupae of *Fidena* (*Laphriomyia*) *rufopilosa* (Ricardo) (Diptera: Tabanidae) developing in bromeliad phytotelmata in the Atlantic forest of southern Brazil. *Journal of the Kansas Entomological Society*, **78**, 381-386.

### Tabelas e figuras

Tabela 1. Efeitos do aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat na riqueza de comunidades aquáticas, macrofauna, microfauna e bactérias, analisados por análise de covariância (ANCOVA)

Effect	GL	MS	F	P
<i>Riqueza da macrofauna</i>				
Aquecimento	2	2.22	0.27	0.766
Diversidade de predadores	2	54.42	6.57	0.004
Aquecimento x Diversidade de predadores	4	0.28	0.033	0.998
Tamanho do habitat	1	72.91	8.80	0.005
Resíduos	35	8.28		
<i>Riqueza da microfauna</i>				
Aquecimento	2	16.58	5.51	0.009
Diversidade de predadores	2	31.67	10.51	<0.001
Aquecimento x Diversidade de predadores	4	9.51	3.16	0.027
Tamanho do habitat	1	9.27	3.08	0.088
Resíduos	34	3.01		
<i>Riqueza de bactérias (UTOs)</i>				
Aquecimento	2	6.02	0.41	0.668
Diversidade de predadores	2	2.96	0.20	0.820
Aquecimento x Diversidade de predadores	4	9.29	0.63	0.645
Tamanho do habitat	1	5.49	0.37	0.546
Resíduos	35	14.77		

Table 2. Análise ProTest na resposta dos diferentes grupos taxonômicos aos drivers experimentais – aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat (modelos organizados através de dbRDA).

<b>Componente</b>	<b>Macrofauna</b>		<b>Microfauna</b>		<b>Bactéria</b>	
	<b>m<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>m<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>m<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
Macrofauna			0.9462	0.205	0.9297	0.106
Microfauna					0.9293	0.089

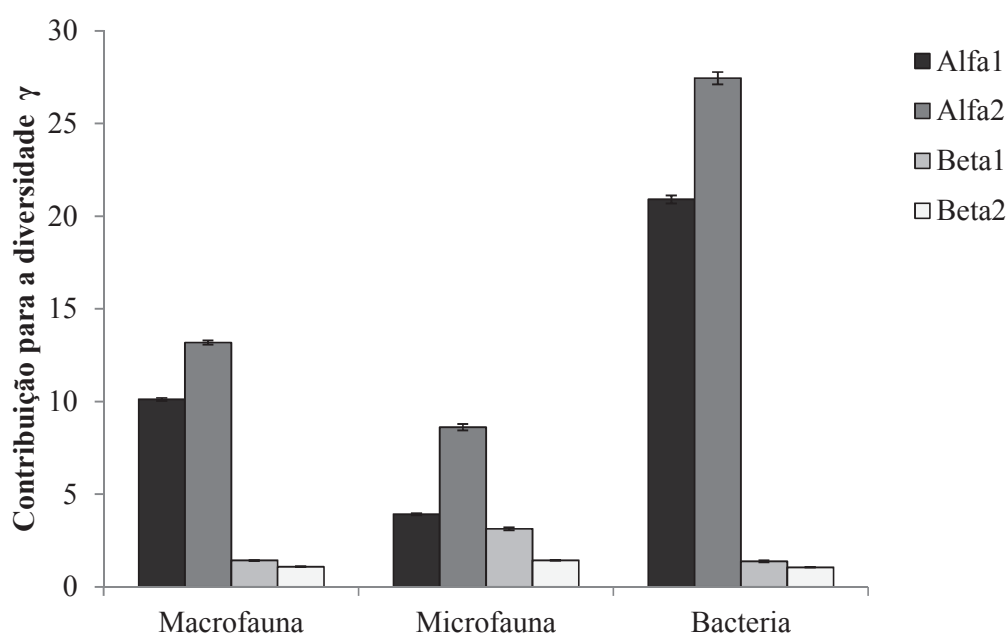
### Legendas das figuras

**Fig. 1** Diversidade  $\gamma$  de cada grupo biológico particionado em  $\alpha_1$  (cada bromélia individual),  $\alpha_2$  (cada bloco experimental),  $\beta_1$  (entre bromélias) e  $\beta_2$  (entre blocos experimentais). Barras de erros foram geradas utilizando aleatorização por bootstrap com 999 repetições.

**Fig. 2** Relação do aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat na riqueza de cada grupo biológico: A) macrofauna, B) microfauna e C) bactéria.

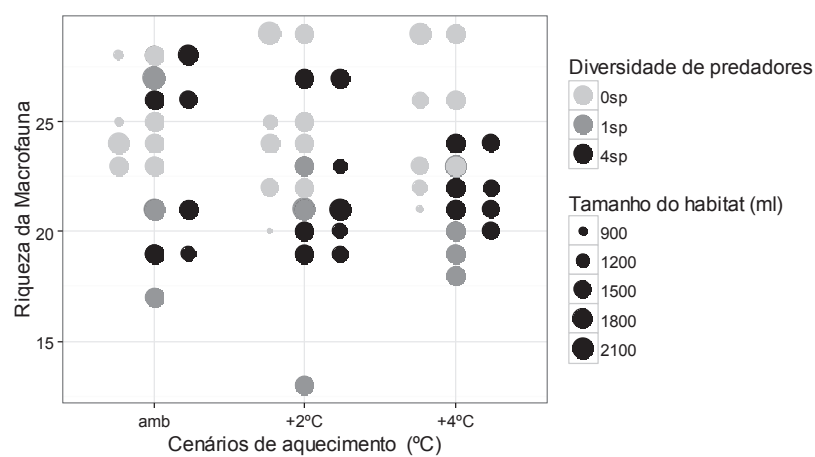
**Fig. 3** Análise de redundância baseada em distância (dbRDA) mostrando a resposta das comunidades da A) macrofauna, B) microfauna e C) bactérias ao aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat. Cores diferentes representam os tratamentos da diversidade de predadores (branco = ausência de predador, cinza = baixa diversidade, preto = alta diversidade). Símbolos geométricos representam os tratamentos de aquecimento (círculo = temperatura ambiente, quadrado = +2°C, triângulo = +4°C). CAP1 e CAP2 representam, respectivamente, o primeiro e segundo eixos utilizados nas análises.

### Figuras

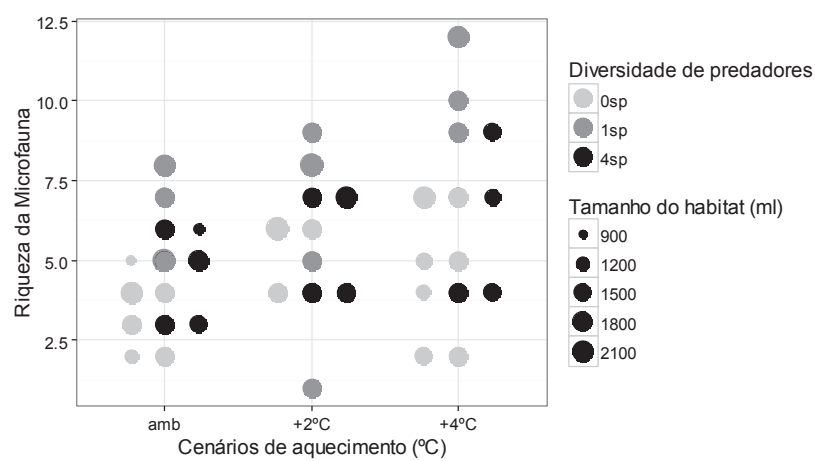


**Fig. 1**

A



B



C

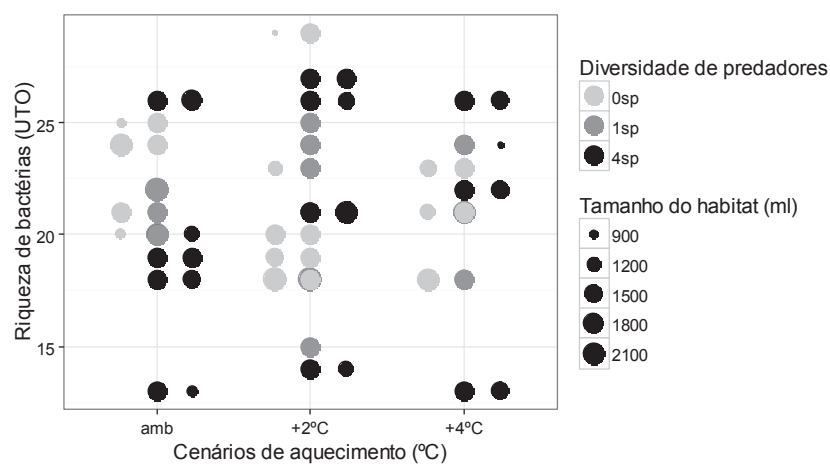


Fig. 2

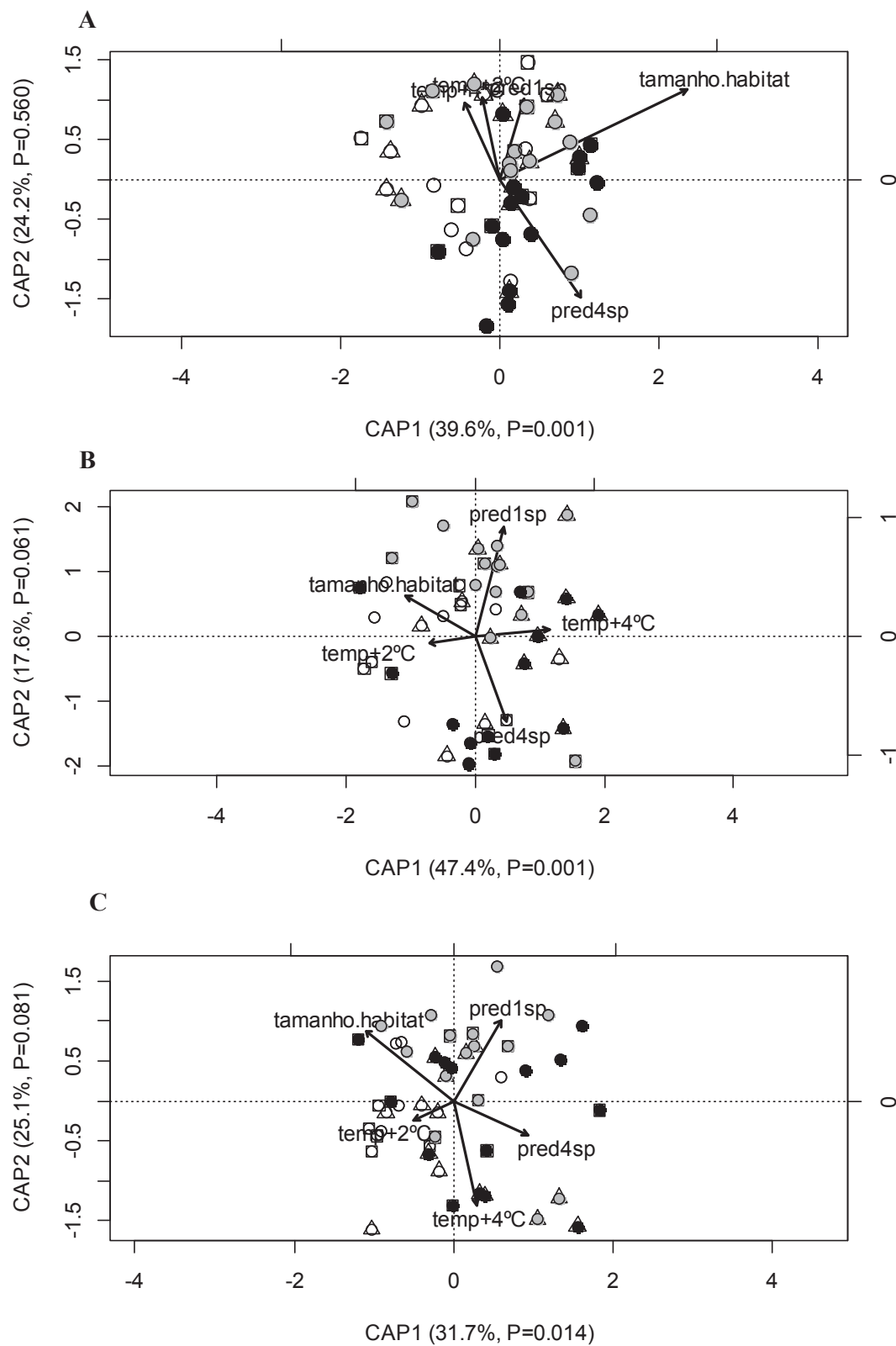
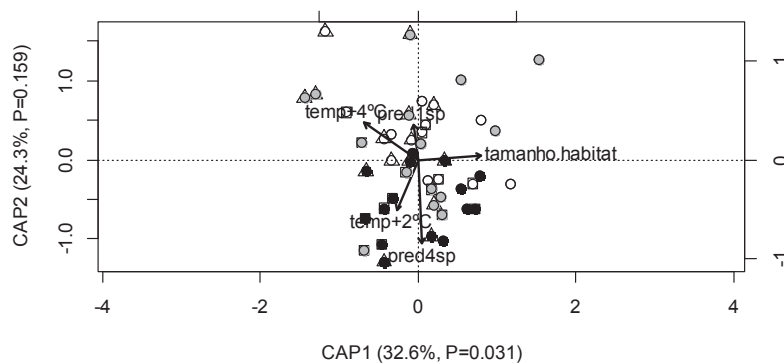


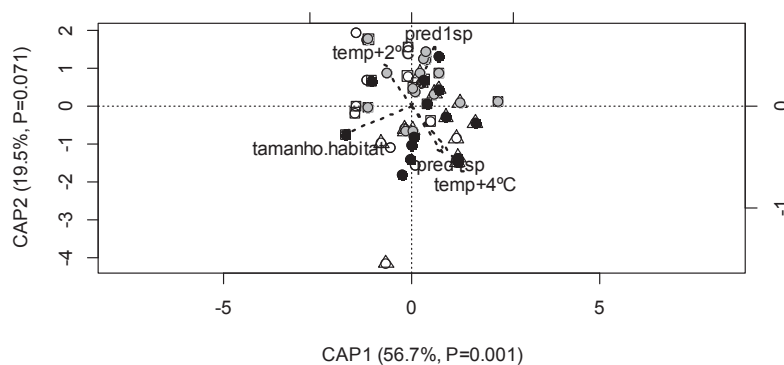
Fig. 3

## Material suplementar

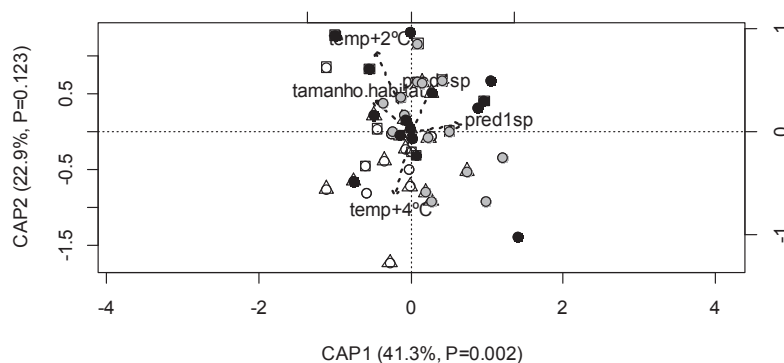
A



B



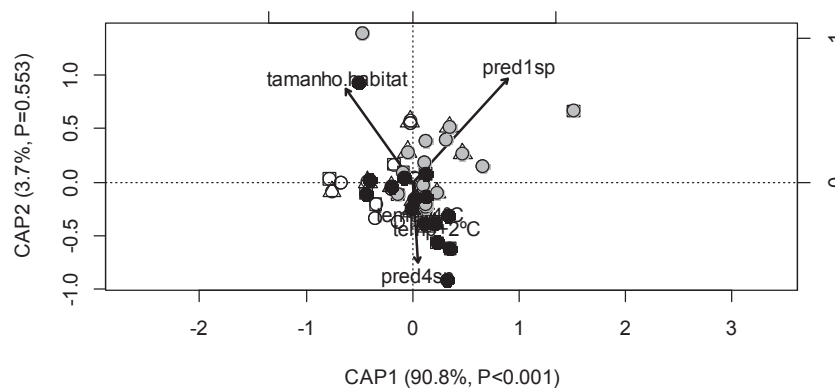
C



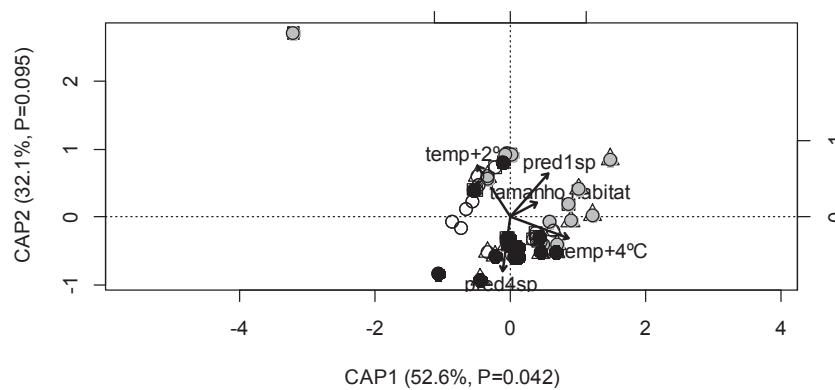
**Fig. S1** Análise de redundância baseada em distância (dbRDA) mostrando a resposta do componente *turnover* da beta diversidade de A) macrofauna, B) microfauna e C) bactérias ao aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat. Cores diferentes representam diferenças nos tratamentos da diversidade de predadores (branco= ausência de predador, cinza= baixa diversidade, preto= alta diversidade). Símbolos geométricos representam diferenças nos tratamentos de aquecimento (círculo = temperatura ambiente, quadrado = +2°C, triângulo = +4°C). CAP1 e CAP2 representam, respectivamente, o primeiro e segundo eixos utilizados nas análises.



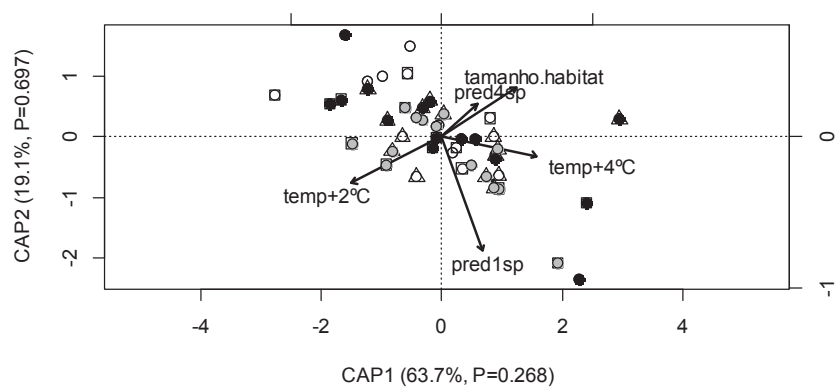
A



B



C



**Fig. S2** Análise de redundância baseada em distância (dbRDA) mostrando a resposta do componente *nestedness* da beta diversidade de A) macrofauna, B) microfauna e C) bactérias ao aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat. Cores diferentes representam diferenças nos tratamentos da diversidade de predadores (branco= ausência de predador, cinza= baixa diversidade, preto= alta diversidade). Símbolos geométricos representam diferenças nos tratamentos de aquecimento (círculo = temperatura ambiente, quadrado = +2°C, triângulo = +4°C). CAP1 e CAP2 representam, respectivamente, o primeiro e segundo eixos utilizados nas análises.

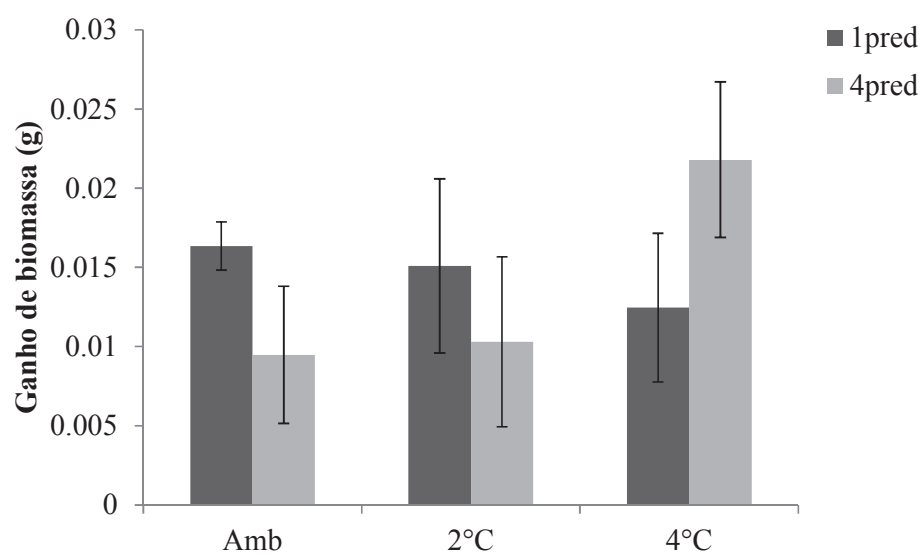
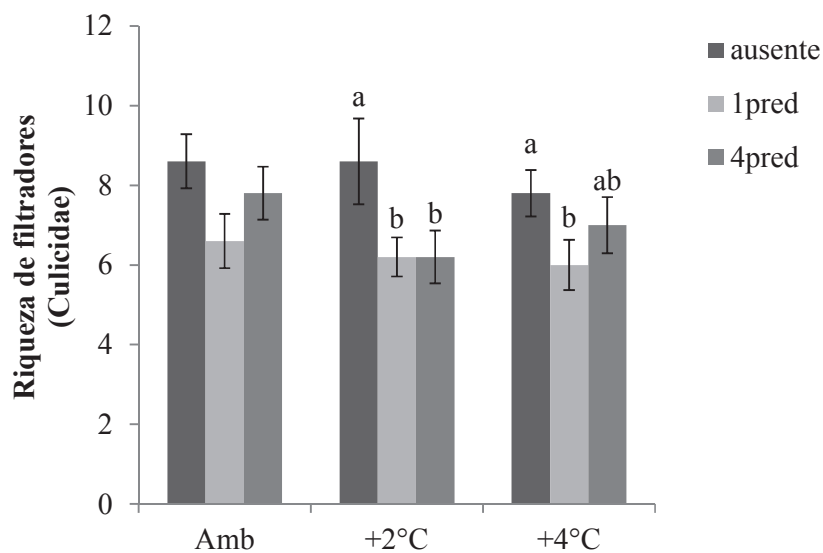
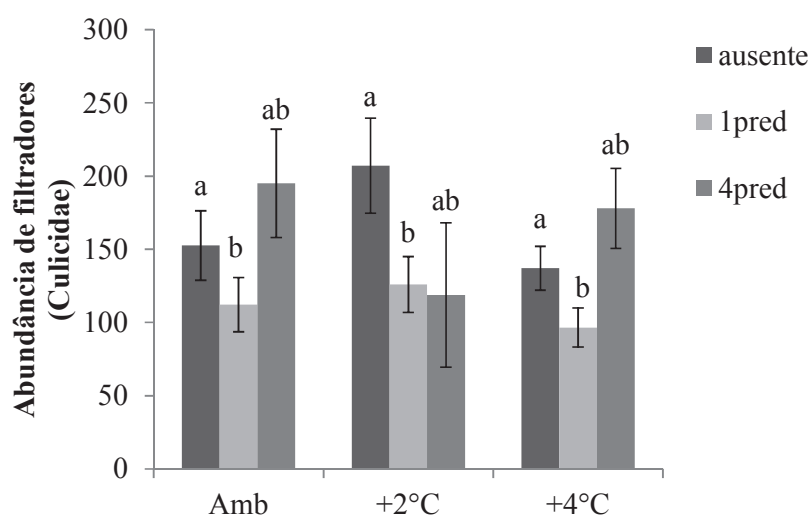


Fig. S3. Média do ganho de biomassa de *L. andromache* quando sozinho( tratamento com uma espécie de predador) e na presença de outras espécies de predadores (alta diversidade de predadores). As barras de erro representam  $\pm$  SE.

A



B



**Fig. S4** (A) Riqueza e (B) abundância de larvas filtradoras (i.e., culicídeos) de bromélias sob diferentes cenários de aquecimento (Ambiente, +2°C e +4°C) e diversidade de predadores (ausência de predadores, uma espécie e quatro espécies de predadores). Letras diferentes sobre as barras indica, diferença estatística (Tukey  $P < 0.05$ ). Barras representam  $\pm EP$ .

## **Síntese**

### **1. Mudanças globais e o funcionamento ecossistêmico**

Demonstramos nesse estudo que mudanças antrópicas atuais podem ter impactos substanciais no funcionamento ecossistêmico e na biodiversidade aquática. Cada estressor ambiental afetou a biota de maneira particular, com efeitos diretos ou indiretos positivos no funcionamento ecossistêmico. O aquecimento previsto para as próximas décadas aumentou a multifuncionalidade ecossistêmica relacionada à produtividade (MEP) de maneira direta, sem afetar nenhum grupo biológico. Por outro lado, a perda de predadores de topo aumentou a MEP de maneira indireta, mediado pelo impacto positivo na diversidade total de macroinvertebrados, que, por sua vez, afetaram também positivamente o MEP. A redução no tamanho do habitat afetou positivamente o MEP e de maneira direta, apesar de causar uma redução na diversidade de macroinvertebrados detritívoros. O componente da multifuncionalidade relacionado à produtividade (MEP) foi composto por processos ecossistêmicos relacionados à dinâmica de nutrientes e componentes físico-químicos do sistema, como densidade de algas, quantidade de matéria orgânica e amônio (composto nitrogenado). Assim, nossos resultados indicam que mudanças ambientais e tróficas podem aumentar a dinâmica de ecossistemas de água doce. Entretanto, o aumento contínuo de nutrientes e compostos físico-químicos no sistema poderia causar a eutrofização em longo prazo, que por outro lado pode ser controlado com a preservação de predadores de topo e habitats maiores. O componente da multifuncionalidade ecossistêmica relacionado ao metabolismo (MEM) não foi afetado por nenhum dos efeitos bióticos ou abióticos, indicando uma resistência metabólica de ecossistemas lênticos de água doce. Evidenciamos assim, que o funcionamento ecossistêmico responde de maneira complexa às diferentes causas antropogênicas, através de efeitos diretos e indiretos, variando de acordo com os componentes ecossistêmicos e antropogênico investigados.

### **2. Mudanças globais e a biodiversidade**

Demonstramos empiricamente que os diferentes impactos ambientais também afetam os componentes da biodiversidade de maneira específica de acordo com o grupo biológico. A macrofauna foi mais sensível às mudanças na diversidade de predadores de topo e ao tamanho do habitat, tanto para a diversidade alfa quanto a diversidade beta. A microfauna foi o grupo mais sensível às mudanças climáticas e tróficas, sendo que a alfa e a beta

diversidade foram afetadas pelo aquecimento, diversidade de predadores e tamanho do habitat. Mudanças climáticas aumentaram a riqueza da microfauna via efeito bottom-up, enquanto que a diversidade de predadores causou o mesmo efeito via top-down. Entretanto, o efeito em cascata dos predadores na riqueza da microfauna pode ser potencializado pelas mudanças climáticas, com predadores consumindo mais presas em cenários de maior aquecimento. Por outro lado, comunidade bacteriana não foi afetada pelas variações ambientais e tróficas. A comunidade de cada grupo biológico foi estruturada de maneira particular, não sendo concordantes entre si diante das mudanças ambientais e tróficas. Nós também demonstramos que a diversidade local foi a que melhor explicou a diversidade regional das comunidades de todos os grupos biológicos (macrofauna, microfauna e bactéria). Dentre os componentes da beta diversidade, a dissimilaridade entre as comunidades foi devida, principalmente, à substituição de espécies e não à perda de espécies. Dessa maneira, nosso estudo indica que a biodiversidade possui respostas complexas às mudanças ambientais, com cada grupo biológico respondendo e sendo estruturado de maneira particular. Nós enfatizamos que a utilização de múltiplos impactos antrópicos nos diferentes componentes da biodiversidade e funcionamento ecossistêmico é uma abordagem mais realista e necessária para melhor entender respostas ecológicas e evolutivas da biodiversidade e dos ecossistemas diante das mudanças globais.

## ANEXOS




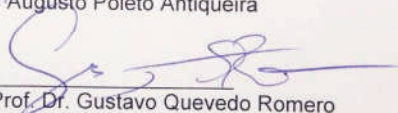
COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
Universidade Estadual de Campinas  
Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil  
Fone (19) 3521-6378, email: cpgib@unicamp.br



## DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Tese de Doutorado, intitulada "*Efeitos das mudanças climáticas na estrutura de comunidades e funcionamento ecossistêmico utilizando bromélias-tanque como sistema modelo*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura:   
Nome do(a) aluno(a): Pablo Augusto Poletto Antikeira

Assinatura:   
Nome do(a) orientador(a): Prof. Dr. Gustavo Quevedo Romero

Data: 02 de dezembro de 2016

**Profa. Dra. Rachel Meneguello**  
Presidente  
Comissão Central de Pós-Graduação  
**Declaração**

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Efeitos das mudanças climáticas na estrutura de comunidades e funcionamento ecossistêmico utilizando bromélias-tanque como sistema modelo**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 02 de dezembro de 2016

Assinatura : \_\_\_\_\_

Nome do(a) autor(a): **Pablo Augusto Poleta Antiqueira**  
RG n.º 40.216.745-4

Assinatura : \_\_\_\_\_

Nome do(a) orientador(a): **Prof. Dr. Gustavo Quevedo Romero**  
RG n.º 23.985.512-7